DIE BESTANDTEILE DER GRAMINEENKEIME MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG UND UNTERSUCHUNG DER BESTANDTEILE DER MAISKEIME.

THÈSE

PRESENTÉE PAR

F. R. WÜNSCHE (LÖBAU SA.)

À LA

FACULTÉ DES SCIENCES

DE

L'UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR.

ACAD.
LUGD. BAT.
BIBL.

DRUCK VON ROBERT NOSKE, BORNA-LEIPZIG
GROSSBETRIEB FÜR DISSERTATIONSDRUCK
1915.

LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL, SUR LE RAPPORT DE M. M. LES PROFESSEURS O. BILLETER ET H. RIVIER, AUTORISA L'IMPRESSION DE LA PRÉSENTE THÈSE SANS EXPRIMER D'OPINION SUR LES PROPOSITIONS QUI Y SONT CONTENUS.

NEUCHÂTEL, JUILLET 1914.

LE DOYEN:
A. JAQUEROD.

MEINER LIEBEN FRAU UND MEINEN
SÖHNEN HANS UND HERMANN IN
TREUER LIEBE GEWIDMET.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555007_0061

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung 1

I. Die Bestandteile der Gramineenkeime 2

1. Weizen 3
2. Hafer 10
3. Gerste 10
4. Roggen 12
5. Reis 13
6. Mais 15

Literaturnachweis 19

II. Die Untersuchung von Maisembryonen.

Einleitung 21

1. Quantitative Untersuchungen.

A. Material A 22
a) Trockensubstanz 22
b) Fettbestimmungen 22
c) Phosphor und Stickstoff im Äther- und Alkoholextrakt.
α) Stickstoff im Ätherextrakt 23
β) Phosphor im Ätherextrakt 23
γ) Phosphor im Alkoholextrakt 24
d) Unverseifbares im Ätherextrakt 24
e) Aschenbestimmung 24
f) Trockensubstanz im entfetteten Material 25
g) Stickstoff im entfetteten Material 25
h) Verteilung des Stickstoffes im entfetteten Material . 26
i) Stickstoff im nur mit Äther extrahierten Material . . 27
k) Verteilung des Stickstoffes im nur mit Äther extrahierten Material 28

B. Material B (ausgelesene Keime).
a) Trockensubstanz 28
b) Stickstoff 29
c) Fettbestimmung 29
d) Trockensubstanz in entfetteten Keimen 29
e) Stickstoff in entfetteten Keimen 29
f) Verteilung des Stickstoffes in entfetteten Keimen . . 30

C. Lösliche Kohlenhydrate im Material A 30
D. Untersuchung auf Pentosen 31

2. Qualitative Untersuchungen.

A. Voruntersuchung des Fettes 31
a) Unverseifbares 31
b) Fettsäuren 32

Seite

B. Untersuchung des Rohfettes 32
a) Unverseifbares 32
b) Fettsäuren 35
C. Phosphatide 36
D. Phytin 39
E. Stickstoffhaltige Verbindungen im Material A 41
a) Aminosäuren 42
b) Amide 42
c) Organische Basen 43
d) Wasserlösliche Eiweißkörper 44
e) Alkalilösliche Eiweißkörper 45
F. Eiweißgewinnung aus Material B 45
G. Untersuchung des alkalilöslichen Eiweiß 46
a) Isolierung der Aminosäuren 46
b) Bestimmung der Hexonbasen 52
H. Autolysenversuche 58
a) Stickstoffbestimmung 59
b) Zuckerbestimmung 60
c) Prüfung auf Glykoside 60
d) Pentosebestimmung 62
I. Organische Basen aus Material A 64
a) Alloxurbasen 65
b) Histidin 65
c) Arginin 66
d) Lysin, Cholin, Betaine 66
K. Organische Basen aus Material B 67
a) Histidin 68
b) Arginin 69
I. Pikratfraktion (Guanidin) 70
II. Pikratfraktion 71
III. Pikratfraktion 72
Unbekannte Base 73
3. Zusammenfassung der Ergebnisse 78

Einleitung.

Über den Mais liegt eine große Reihe von Arbeiten chemischer Natur vor. Die älteren Arbeiten beschäftigen sich mit der Zusammensetzung der Maispflanze in verschiedenen Entwicklungsstadien vom Beginn der Keimung bis zur Fruchtreife. Trotzdem diese Untersuchungen mit den damaligen unzulänglichen Methoden ausgeführt worden sind, gewähren sie doch einen gewissen Einblick in den Aufbau und die Wanderung der Stoffe, wobei auch auf die Bedeutung der Aschenbestandteile hingewiesen wird.

In unserem Laboratorium sind eine Anzahl von noch nicht publizierten Arbeiten ähnlicher Art ausgeführt worden, unter Zuhilfenahme der neueren Methoden. Diese Arbeiten wurden in der Absicht ausgeführt, einigen Aufschluß über die Bildung der Eiweißstoffe in den Pflanzen zu gewinnen.

Für das Studium dieser Frage schien mir mit Rücksicht auf die vorliegenden chemischen Untersuchungen die Maispflanze besonders geeignet. Dabei war es angezeigt, über die chemische Zusammensetzung des Embryo des Maiskornes Aufschluß zu erlangen, weshalb sich die vorliegende Arbeit zunächst ausschließlich mit der Untersuchung desselben beschäftigt.

Bekanntlich ist die Salpetersäure für viele Pflanzen die günstigste, für manche sogar die einzige Stickstoffverbindung, aus welcher sie den Stickstoff assimilieren. Von verschiedenen Forschern wurde dargetan, daß beim Mais sich die Ammonsalze für die Aufnahme von Stickstoff besser eignen als die Nitrate.[3]) Nach F. Bentle[1]) sollen Acetamid und Asparagin, nach G. Ville[2]) Alkylamine durch das Wurzelsystem der Maispflanzen aufgenommen und zur Eiweißsynthese verwendet werden. Lutz[3]) hat dann bewiesen, daß dabei eine Zersetzung durch Bakterien und die Bildung von Ammoniak und Salpetersäure (Nitrifikation) nicht in Betracht kommen. Deshalb erscheint es mir angezeigt, gerade diese Pflanze zur Untersuchung über die Eiweißbildung heranzuziehen.

Es seien noch einige Eigentümlichkeiten erwähnt, die bei der Verwertung des Mais für technische Zwecke und bei dem Gebrauch desselben als Nahrungsmittel beobachtet wurden.

Maisbier soll von allen Bieren den geringsten Gehalt an Stickstoffverbindungen haben.[4]) Auch enthält der aus Mais gewonnene Branntwein weniger Fuselöle als derjenige aus Kartoffeln, Rüben und Melasse.[5])

Von verschiedenen Seiten wird darauf hingewiesen, daß die „Pellagra" genannte Krankheit von einseitiger Ernährung mit Maisprodukten herrühren soll. Die Ansichten hierüber sind allerdings noch recht strittig: einerseits wird behauptet, daß die Krankheit nur durch verdorbenen Mais verursacht werde, andererseits (Forbes) macht man eine Mücke, welche in Maisgegenden vorkommt, dafür verantwortlich. Nach Horbaczewski[6]) soll der im Maisöl enthaltene gelbe Farbstoff toxisch wirken (s. S. 79).

Literaturnachweis.

[1]) Journ. f. Landwirtsch. 1874 S. 113.
[2]) Biedermanns Zbl. Agr. Chem. VIII. 379 (1875).
[3]) Ann. Sc. nat. (7) T. VII. 1 (1899); vgl. darüber auch Gerlach u. Vogel (Zbl. Bakt. II. 14 S. 124 (1905)).
[4]) König, Chemie der Nahrungs- und Genußmittel Bd. 1 S. 1226.
[5]) J. Shilagy, zit. nach König Bd. 1 S. 1439.
[6]) Biochem. Zentralbl. Bd. 10 (1910) S. 932.

I. Bestandteile der Gramineenkeime.

Über die Bestandteile der Keime von Gramineen liegen zurzeit nur wenige Untersuchungen vor. Selbst bei den Cerealien, diesen wichtigen Nutzpflanzen, sind nur in wenigen Fällen die Embryonen gesondert vom Endosperm untersucht worden, da die Trennung der meist kleinen Embryonen von den übrigen Teilen der Samen mühsam und mit großen Schwierigkeiten verbunden ist.

Eine vollständige Untersuchung mit Hilfe der in der Neuzeit geschaffenen Methoden der Pflanzenchemie ist bisher nur von E. Schulze und seinen Mitarbeitern in jahrelangen, sorgfältigen Arbeiten an Triticum vulgare ausgeführt worden, da diese Keime als Abfallprodukte der Müllerei leicht erhältlich waren.

In neuerer Zeit sind von japanischen Forschern die Eiweißkörper der Reiskleie (worin sich die Embryonen des Reis befinden) eingehender untersucht worden; auch von amerikanischen

Forschern sind an Embryonen fast nur Untersuchungen der verschiedenen Eiweißkörper ausgeführt worden.

Alle andern Arbeiten über Embryonen der Gramineen beschränken sich fast ausschließlich auf die Bestimmung von Wasser, Rohprotein, Rohfett, stickstofffreie Extraktstoffe, Rohfaser und Asche und sind meist älteren Datums.

Ich will eine kurze Übersicht über die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen von Embryonen der Getreidearten meinen eigenen Arbeiten voransetzen und beginne mit den Arbeiten von E. Schulze und Mitarbeitern über die

1. Bestandteile der Weizenkeime (Triticum vulgare).

Die unter dem Mikroskop ausgesuchten reinen Embryonen, denen keine Teilchen des Endosperms anhafteten, ergaben (berechnet auf die Trockensubstanz):

		%
	In Wasser lösliche Proteine . .	13,62 [1]
	„ „ unlösliche Proteine .	21,62 [1]
	Rohfett	13,51 [1]
davon	Lecithin*)	1,55 [2]
	Phytosterin	0,44 [3]
	In Wasser lösliche Kohlenhydrate	24,34 [4]
davon	Raffinose	6,89 [5]
	Rohfaser	1,71 [6]
	Asche	4,82 [6]
	Gesamtstickstoff	6,44
	Nichtproteinstickstoff	0,80

Der Gesamtphosphorgehalt betrug 2,78 % P_2O_5,[7]) er verteilt sich auf Phytin, Lecithin und Nukleinsäuren (Aschegehalt 5,19 % mit 53,6 % P_2O_5). Calcium und Magnesium qualitativ nachgewiesen.

In diesen Ergebnissen fällt der große Gehalt an H_2O löslichen Proteinen auf; diese gehören allem Anscheine nach in die Gruppe der Albumosen. Globuline konnten nur in ganz geringer Menge isoliert werden (vgl. S. 67).

Nichteiweißartige Stickstoffverbindungen wurden folgende isoliert und genau charakterisiert:

Allantoin, wenig,[8]) Asparagin,[9]) Arginin,[10]) Cholin.

Histidin und Lysin konnten nicht isoliert werden.

---

*) Die Lecithinmenge ist aus der ätherlöslichen Phosphorsäure (bestimmt als Pyrophosphat) durch Multiplikation mit dem Faktor 7,2703 berechnet worden.

Betain und Aloxurbasen (hauptsächlich wohl Hypoxanthin). Betain und Cholin stets in geringer Menge gefunden (und zwar Betain viel mehr als Cholin, daneben dritte Base in sehr kleiner Menge[10]).

Stärke kommt in den Embryonen von Weizen nicht vor, es konnten aber Rohrzucker[11]) und Melitose (Raffinose)[12]) dargestellt werden.

Das in größerer Menge darstellbare, hellgelbe Fett wurde nicht weiter untersucht; aus einer großen Menge desselben wurde Sitosterin[13]) gewonnen.

Nach Welsch[14]) scheint von den pflanzlichen Sterinen das Sitosterin die weiteste Verbreitung zu haben. In Triticum vulgare wurde es von Burian entdeckt und von E. Ritter eingehender untersucht.

Außer den oben angeführten Untersuchungen sind nur noch wenige zu erwähnen.

König[15]) gibt folgende Zusammensetzung der Weizenkeime an:

	%
Wasser	15,4
Rohfett	10,3
Rohprotein	28,5
Stickstofffreie Extraktstoffe	37,3
Rohfaser	3,1
Asche	5,3

An anderer Stelle[16]) sagt derselbe Forscher, daß die Weizenkeime 6—10 % fettes Öl enthalten, während de Negric[17]) dafür 15,5 % anführt.

Osborne u. Campbell[19]) isolierten aus Weizenembryonen: Leukosin 10 %, ein Globulin 5 % und zwei verschiedene Proteosen 3 %.

Czapek[20]) gibt eine Aschenanalyse der „Weizenkeimlinge", wobei der große Gehalt folgender Bestandteile besonders hervorgehoben sei:

		%		%
K_2O:	Radicula	43,23,	Plumula	48,38
P_2O_5:	„	29,12,	„	41,1
MgO:	„	7,05,	„	5,93

Johannsen[21]) wies das Vorkommen einer Invertase im „keimenden" Weizen nach.

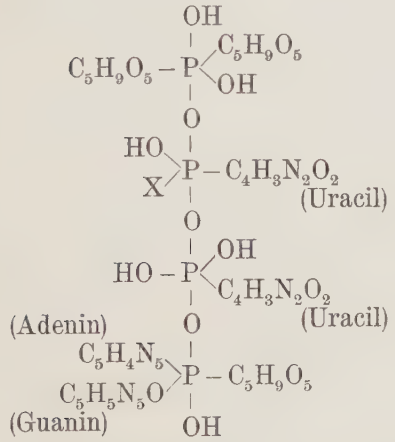
Smolenski[22]) isolierte aus Weizenkeimen ein kohlenhydrathaltiges Phosphatid mit 3,5—3,9 % Phosphor, 2,1—2,3 % Kohlenhydrat (als Dextrose berechnet). Eine erhaltene kristalli-

sierte Verbindung wies 6,9 % Phosphor und 2,1 % Glykose auf, eine andere 5,48 % Phosphor.

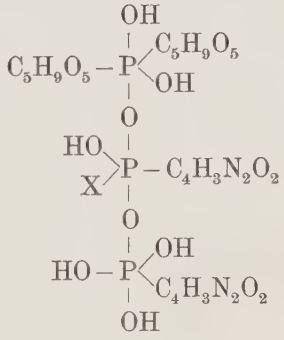
Nach Mach[23]) sank der Nichtproteinstickstoff des Embryo während dreimonatlichen Lagerns von 9 % auf ca. 3,21 % der Trockensubstanz.

In Weizenembryonen wurde von Osborne u. Harris[24]) eine Nucleinsäure entdeckt, der sie den Namen Triticonucleinsäure gaben. Sie konnten aus dem käuflichen Mehl der Embryonen 3,5 % dieser Säure isolieren, fanden aber, daß sich dieser Gehalt bei längerem Aufbewahren des Mehles vermindert, so daß schließlich entweder gar keine oder nur sehr wenig Nucleinsäure erhalten werden kann.*) Die Zusammensetzung der Säure entsprach der Formel $C_{41}H_{61}N_{16}P_4O_{31}$, sie gab bei Hydrolyse mit Säuren auf je 4 Phosphoratome 1 Mol. Guanin = 2 Amino-6 Oxyparin, 1 Mol. Adenin = 6 Aminopurin, 2 Mol. Uracil = 2,6 Dioxypyrimidin, 3 Mol. Pentosen und 1 Mol. eines nicht identifizierten basischen Produktes. Die Konstitution wurde durch Formel I ausgedrückt als ein Ester einer Pentahydroxylphosphorsäure, dessen Existenzfähigkeit nach Stokes[26]) möglich sei. Bei kurzer Säurehydrolyse blieb eine komplexe Phosphorsäure von der Formel II zurück, die kein Guanin und Adenin und nur 2 Pentosegruppen auf je 3 Atome Phosphor enthielt.

I.



II.



*) Vielleicht kommt in den Embryonen des Weizens eine „Nuklease“ vor; eine solche wurde aus den Preßsäften verschiedener tierischer Organe isoliert.[25])

Die Anzahl der Wasserstoffatome im Guaninrest wird irrtümlich mit 5 statt 4 eingesetzt.

Die Triticonucleinsäure zeige Ähnlichkeit mit den Nucleinsäuren tierischer Herkunft und scheine „nahe verwandt und vielleicht sogar identisch mit Hefenucleinsäure“ zu sein: „da beide Uracil und eine Pentose enthalten und dieselbe Zusammensetzung zu haben scheinen“. Den Beweis dieser Identität will Levene geführt haben, wovon weiter unten noch die Rede sein wird. Nach Osborne u. Heyl können die Eiweißverbindungen der Nucleinsäure als nucleinsaures Eiweiß betrachtet werden, und es seien die Nucleoproteide Verbindungen von viel Eiweiß mit wenig Nucleinsäure, die Nucleine dagegen Verbindungen von viel Säure mit wenig Eiweiß.

Wheeler u. Johnson[27]) wiesen dann als Spaltungsprodukt der Triticonucleinsäure Cytosin (2-Amino, 6-Oxypyrimidin) nach.

Osborne u. Heyl[28]) geben an, daß der Stickstoffgehalt des Guanins, Adenins, Cytosins und Uracils $^{15}/_{16}$ des Gesamtstickstoffs betrage, sie nehmen an, daß 4 Phosphoratome mit je einem Mol. dieser 4 Körper verbunden seien. Der Rest des Stickstoffs gehöre einem unbekannten Spaltungsstück X an.

Die Arbeiten von P. A. Levene und Mitarbeitern[29]) über Nucleinsäuren aus Pflanzen müssen hier miterwähnt werden, obgleich sich diese Forscher hauptsächlich mit Hefenucleinsäure beschäftigten, diese aber als identisch mit der Triticonucleinsäure bewiesen zu haben angeben. Die Pentose wurde als d-Ribose erkannt.[30]) Sie kamen bei partieller Hydrolyse zu Komplexen, welche aus einer Pentose und einer Base zusammengesetzt sind, die sie „Nucleoside“ nennen und fanden als solche in Hefenucleinsäure:

Purinderivate	1. Guanosin,[31]) welches aus Guanin und d-Ribose besteht und dessen Identität mit Vernin von Schulze u. Trier[32]) bewiesen wurde.
	2. Adenosin,[33]) eine Verbindung von Adenin und d-Ribose.
Pyrimidinderivate	3. Cytidin,[34]) (s. auch [32])) eine Verbindung von Cytosin und einer Pentose.
	4. Uridin,[35]) eine solche von Uracil mit einer Pentose.

In einer neueren Arbeit wurde nachgewiesen, daß die Pentose in den Pyrimidinnucleotiden ebenfalls d-Ribose ist (s. unten).

Als „Nucleotide“ bezeichnet Levene partielle Spaltungsprodukte der Nucleinsäuren, welche aus je einer Phosphorsäure,

einer Kohlenhydratgruppe und einer Base bestehen [36]) und deren Konstitution derjenigen der Guanylsäure entsprechen dürfte.

Das Molekül der Hefenucleinsäure sei aus 4 Nucleotiden zusammengesetzt, und zwar:

Purin-nucleotid $O=P\begin{cases}OH\\OC_5H_8O_4\cdot C_5H_4N_5O\\OH\end{cases}$ Guanylsäure [37])

Pyrimidin-nucleotide

$O=P\begin{cases}OH\\O\cdot C_9H_{12}N_3O_4\\OH\end{cases}$ Cytidinnucleotid [38])

$O=P\begin{cases}OH\\O\cdot C_9H_{11}N_2O_5\\OH\end{cases}$ Uridinnucleotid [38])

Die Konstitution der beiden letzten Verbindungen ist noch nicht aufgeklärt.

Das Uridinnucleotid gibt bei weiterer Hydrolyse Uridin, einen glykosidartigen Uracilkomplex, und dies sei der Beweis, daß das Uracil in der Nucleinsäure primär vorkomme und nicht durch Desamidierung des Cytosins gebildet werde. Cytidin gibt beim Behandeln mit salpetriger Säure Uridin, identisch mit dem aus Hefenucleinsäure dargestellten. Es resultieren also:

1. bei Hydrolyse mit Mineralsäuren: Adenin, Guanin, Cytosin, Uracil, d-Ribose und Phosphorsäure.
2. bei schwach alkalischer Hydrolyse glykosidartige Produkte der intermediären Spaltung, frei von Phosphorsäure, sogen. Nucleoside.
3. bei Hydrolyse mit ganz verdünnten Säuren Komplexe partieller Hydrolyse, alle phosphorhaltig und entweder nur e i n e Base enthaltend oder ganz basenfrei, die sogen. Nucleotide.

Die Elementaranalyse der Hefenucleinsäure stimme auf $C_{38}H_{49}O_{29}N_{15}P_4$.

Konstitution:

$O=P\begin{cases}OH\\C_5R_8O_4\cdot C_5H_4N_5\end{cases}$ Adeninrest

$O=P\begin{cases}O\\C_5H_8O_4\cdot C_4H_4N_5O\end{cases}$ Guaninrest

$O=P\begin{cases}O\\C_5H_8O_4\cdot C_4H_4N_3O\end{cases}$ Cytosinrest

$O=P\begin{cases}O\\C_5H_8O_4\cdot C_4H_3N_2O_2\\OH\end{cases}$ Uracilrest

Als Furfurolphloroglucid wurden nur 25 % Pentose gefunden (= 2 Mol Pentose), statt wie berechnet 48 %.

Cytidin und Uridin werden aus Nucleinsäuren nur bei großer Konzentration der Säure oder bei hohem Druck abgespalten und geben d-Ribose.

Levene u. La Forge[41]) erhielten bei der partiellen Spaltung von Triticonucleinsäure dieselben Komplexe: Guanosin, Adenosin und Cytidin, wie bei der Hefenucleinsäure, „womit die Identität der beiden Verbindungen wahrscheinlich gemacht und folglich die Natur der Pentose in der Triticonucleinsäure als d-Ribose sichergestellt sei".

H. Steudel schloß auf Grund seiner Untersuchungen tierischer Nucleinsäuren, daß viele der früher als primäre Spaltungsprodukte der Nucleinsäuren betrachteten Körper erst sekundär bei der Aufarbeitung entstünden. Er machte auf dem Kongreß für allgemeine Chemie in London (1909) eine eingehende Mitteilung über die Untersuchung der aus Lachssperma darstellbaren Nucleinsäure. Dem Berichte entnehme ich folgendes:

Beim Spalten mit verdünnter Schwefelsäure wurden früher folgende Substanzen erhalten:

1. Phosphorsäure,
2. Ammoniak,
3. Purinbasen
   - Guanin
   - Adenin
   - Xanthin
   - Hypoxanthin,
4. Pyrimidinkörper
   - Cytosin
   - Uracil
   - Thymin,
5. Kohlenhydratgruppe
   - Glukosen
   - Ameisensäure
   - Laevulinsäure.

Da aber die Purine und Pyrimidinkörper durch Säuren verändert werden, unter teilweiser Abgabe von Ammoniak, so schien es höchst fraglich, ob alle die aufgezählten Produkte als primäre Spaltungsprodukte aufzufassen seien. Es gelang in der Tat nachzuweisen, daß durch kurzandauerndes Erhitzen mit Salpetersäure Basen abgespalten und als unlösliche Nitrate ausgeschieden werden. Auf Grund seiner Ergebnisse stellte Steudel folgende Gleichung für den Verlauf der Spaltung der Nucleinsäure auf[42]):

$$C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4 + 8H_2O + O_2 = \underset{\text{(Adenin)}}{C_5H_5N_5} + \underset{\text{(Guanin)}}{C_5H_5N_5O} +$$
$$+ \underset{\text{(Thymin)}}{C_5H_6N_2O_2} + \underset{\text{(Cytosin)}}{C_4H_5N_3O} + 4C_6H_{12}O_6 + 4HPO_3.$$

Mit dieser Formulierung stimmen die erhaltenen Mengen an Basen in recht befriedigender Weise überein und ebenso die von verschiedenen Forschern (Schmiedeberg, Miescher u. a.) erhaltenen Zahlen der Elementaranalyse. Demnach müssen die andern Substanzen, wie Hypoxanthin usw. Ameisensäure, Ammoniak als sekundäre Produkte der Spaltung aufgefaßt werden.[43])

Steudel nimmt an, daß das Uracil in der Triticonucleinsäure sekundär aus Cytosin durch Desamidierung entstanden sei.[44]) Dasselbe folgert K. Kowalewsky aus ihren Untersuchungen der Hefenucleinsäure,[45]) da diese bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure große Mengen Ammoniak gibt, welches aus dem Cytosin, Guanin und Adenin abgespalten sei. Kowalewsky rechnet das gefundene Uracil auf Cytosin um, ebenso Hypoxanthin auf Adenin, und Xanthin auf Guanin und stellt folgende Gleichung für die Spaltung der Hefenucleinsäure auf:

$$C_{29}H_{42}N_{13}P_3O_{23} + 6H_2O = \underset{\text{(Guanin)}}{C_5H_5N_5O} + \underset{\text{(Adenin)}}{C_5H_5N_5} +$$
$$+ \underset{\text{(Cytosin)}}{C_4H_5N_3O} + 3C_5H_{10}O_5 + 3H_3PO_4.$$

Es ist hierbei auf je ein stickstoffhaltiges Produkt 1 Molekül Pentose und 1 Molekül Phosphorsäure angenommen (welche Annahme den gefundenen Werten ziemlich gut entspricht, wie folgende Übersicht zeigt).

	Berechnet:	Gefunden:
Guanin	= 14,63 %	14,74 %
Adenin	= 13,08 %	8,14 %
Cytosin	= 10,75 %	7,87 %
Pentose	= 29,43 %	23,44 %

Elementaranalyse.

	Berechnet:	Gefunden:
C	= 39,69 %	—
H	= 4,10 %	—
N	= 17,63 %	16,16 %
P	= 9,01 %	8,65 %

Daß die Mineralsäuren eine desamidierende Einwirkung ausüben, wurde schon häufig konstatiert (s. S. 10), neuerdings fanden Schittenhelm u. Wiener,[46]) daß beim Abbau der Nuclein-

säuren durch Organfermente das „in organischer Bindung vorhandene Guanin“ relativ leicht zu Xanthin desamidiert wird, ebenso Adenin zu Hypoxanthin. Der Abbau der Nucleinsäuren gehe über die Nucleoside. Es wurde z. B. Guanosin nachgewiesen, welches im freien Zustande gegen Organfermente beständig sei.

Nach Osborne u. Harris[47]) wird aus den Nucleinsäuren Ammoniak bei Hydrolyse mit verdünnten Mineralsäuren nicht abgespalten, so gibt z. B 2 % ige Schwefelsäure in 30 Minuten keine Spur Ammoniak, dagegen wurde durch 12 % ige Salzsäure aus 1 g Nucleinsäure in 10 Minuten 0,016 N als Ammoniak abgespalten, größtenteils aus dem Guanin, dem Adenin, dem Uracil stammend.

Uracil könne nicht aus Guanin oder Adenin (S. 109 a. a. O.) entstanden sein, da diese Körper schon nach kurzer Hydrolyse abgespalten und entfernt wurden, der Rückstand aber erst bei weiterer Spaltung Uracil lieferte.

Uracil sei im Nucleinsäuremolekül viel fester gebunden als die Purinbasen und werde erst nach längerer Einwirkung starker Mineralsäuren abgespalten.

Aus diesem Literaturbericht ist zu ersehen, daß die Meinungen über die Konstitution der Nucleinsäuren und über den Verlauf der Spaltung derselben noch stark auseinander gehen.

2. Hafer (Avena sativa L).

In der mir zugänglich gewesenen Literatur fand ich über Haferkeime nur eine Fettbestimmung von Haberlandt.[48])

Der Keim des untersuchten „nackten Hafers“ beträgt 3,72 % vom ganzen Korn und enthält 25,71 % Fett.

3. Gerste (Hordeum sativum Jess. H. vulgare L).

Embryonen der Gerste sind nur in wenigen Fällen für sich untersucht worden. Haberlandt[49]) fand im Keim von H. sativum 22,42 % Fett. Das Gewicht des Keimes betrug 3,01 % vom ganzen Korn.

P. Petit[50]) isolierte aus Hordeumembryonen ein Nucleoproteid, welches 43,18 % C, 6,64 % H, 12,86 % N, 1,11 % P und 6,2 % Asche enthielt (darin 3,2 % SiO_2 und 0,2 % Fe).

E. Siebel[51]) gibt für die Plumula der Gerstenkeime 2,19 %, für die Radicula 3,31 bis 2,84 % Asche an.

Wallenstein[52]) fand in den „isolierten Gerstenkeimen“ 11,99 % Lecithin und stellte für „keimende Gerste“ erhebliche Lecithinvermehrung in den spätern Entwicklungsstadien fest.

Alle anderen Untersuchungen befassen sich fast nur mit dem Auffinden von Enzymen aus dem Gerstenmalz, welches für die Gärungsindustrie von Wichtigkeit ist. Unter Malz versteht man bekanntlich das durch Wasser zur Keimung gebrachte Getreidekorn, hauptsächlich von Gerste;[53]) bei dieser Keimung bildet sich Diastase, über deren Sitz die Ansichten der verschiedenen Forscher voneinander sehr abweichen.

Das Studium dieser Frage wird noch erschwert, indem besonders in der älteren Literatur oft die Ausdrücke Embryo, Keim und Keimling durcheinander geworfen werden. Keim ist gleichbedeutend mit Embryo. Unter Malzkeim versteht man dagegen die getrockneten Würzelchen des gekeimten Kornes. Als Keimling wird teils der Embryo der Pflanze, jedoch auch anderseits wieder die ganze junge Keimpflanze bezeichnet. Es ist daher oft schwer zu ergründen, worauf sich die Angaben in der Literatur wirklich beziehen, ob auf den Embryo, die junge Keimpflanze oder auf die getrockneten „Malzkeime". Tangel[53]) nimmt an, daß im Scutellum die Diastase erzeugt und in der Kleberschicht weitergeleitet würde, während Haberlandt[55]) u. Tschirch[56]) die Kleberschicht als die Bildungsstätte der Diastase betrachten. Brown u. Morris[57]) fanden, daß die embryohaltigen Hälften der Gerstenkörner bei der Keimung mehr Zucker bilden als das Endosperm; bei der Zuckerbestimmung ist das Verhältnis: $\frac{\text{Embryo}}{\text{Endosperm}} = \frac{1{,}715\ \text{Cu}}{0{,}610\ \text{Cu}}$. Nach zweitägiger Keimung enthielt der Embryo 5,4 %, das Endosperm 0,3 % Rohrzucker,[58]) nach zehntägiger Keimung 24,2 % der Embryo, 2,2 % das Endosperm.

Kröber[59]) u. Morris[60]) stellen die Existenz einer Maltase bei „Gerstenkeimlingen" in Abrede, vgl. dagegen Cuisinier,[61]) Brown u. Heron.[62]) J. Grüß[63]) fand im Scutellum den Sitz einer Invertasesekretion und wies mittelst Invertin im Scutellum und der Aleuronschicht Saccharose nach. Marcacci[64]) wies Rohrzucker in etiolierten „Gerstenkeimlingen" nach, Kühnemann[65]) fand Saccharose in der gekeimten Gerste. O'Sullivan[66]) behauptet, daß nur im Embryo Invertase vorkäme.

Von Interesse dürften noch die nachfolgenden Ergebnisse sein, welche sich jedoch nicht auf die Embryonen der Gerste beziehen.

Das von Legère[67]) in trockenen „Malzkeimen" gefundene Hordenin wurde als N-Dimethylderivat des p-Oxyphenyläthylamins erkannt, was von Gaebel[68]) bestätigt wurde. Die Synthese des Hordenins gelang Rosenmund[69]) durch Methylierung

des p-Methoxyphenyläthylamins. G. Barger[70]) und neuerdings H. Voßwinckel[71]) führten die Synthese auf anderen Wegen aus. T. Torquati[72]) wies nach, daß ungekeimte Gerste kein Hordenin enthalte, das Maximum an Hordenin trete nach viertägiger Keimung auf, wobei der Keimling 0,10 %, das Würzelchen 0,40—0,45 % enthalte, welcher Gehalt nach 25 Tagen wieder auf Null sinke. In Weizen, Erbse und Lupine sei bei der Keimung kein Hordenin nachweisbar.

K. Yoshimura[73]) hat aus „Malzkeimen“ 0,02 % Cholin, 0,06 % Betain (deren Vorhandensein schon von Schulze und Frankfurt[74]) nachgewiesen war) sowie Spuren von Histidin isoliert und auch Maltose und Invertzucker darin nachgewiesen. Arginin, Asparagin, Vernin und Saccharose waren nicht vorhanden.

L. Adler[75]) fand in Malz und Gerste viel Phytin, dessen Sitz wohl nur in den Spelzen sei. „Malzkeime“ dagegen enthalten größere Mengen phosphorsaurer Alkalien und Erdalkalien.

4. Roggen (Secale cereale L.).

Über Untersuchung von Roggenkeimen sind nur wenige Angaben gemacht worden. Nach F. Haberlandt[48]) beträgt das Gewicht der Keime 6,74 % vom ganzen Korn; der Fettgehalt derselben 12,37 %. K. Nachbaur[76]) fand 9,58 % Wasser, 42,12 % Rohprotein, 12,05 % Fett (kein Stearin). „45,11 % lösliche Substanzen“, 4,44 % Asche; er konnte kein diastatisches Ferment nachweisen. Burian[77]) hat auch in Roggenkeimen Sitosterin entdeckt. Nach Kling[78]) kommen auf den Embryo des Roggens nur 1 % des ganzen Korngewichtes. Sorgfältig mit der Pinzette ausgelesene reine Keime enthielten 14,70 % Wasser, die Trockensubstanz ergab 46,31 % Rohprotein, 12,39 % Fett, 32,81 % N-freie Extraktstoffe, 2,63 % Rohfaser, 5,86 % Asche. Der Gesamtstickstoff war 7,41 %, und zwar:

	%	N-Verteilung in % vom Gesamtstickstoff
Eiweißstickstoff	6,69	90,28
davon wasserlöslich	1,78	24,01
davon wasserunlöslich	4,91	66,26
„Amid“stickstoff	0,72	9,72.

Wasserlösliche Eiweißstoffe (Albumosen) 11,14 %, unlösliche (Globuline) 66,26 %. Stickstoffhaltige Nichtproteine 4,48 %. Freie Fettsäuren (als Ölsäure berechnet) 2,04 % von der Trockensubstanz (= 16,46 % vom Fett). Die stickstofffreien Extrakt-

stoffe bestanden größtenteils aus Zuckerarten; Stärkemehl war nicht vorhanden. Der Gehalt an Pentosanen betrug 8,04 %.

5. Reis (Oryza sativa L.).

Untersuchungen der isolierten Embryonen von Reis sind fast gar nicht zu finden. Meist liegen nur solche der Kleie vor, in der nach C. A. Brown[79]) außer dem Keim noch die Glutenschicht enthalten ist. G. Campani[80]) fand im Fett der Reisembryonen 4,46 % Glyzerin und 95,50 % Fettsäuren, worunter er Palmitinsäure nachgewiesen hat und andere Säuren wie Arachin-, Behen- und Lignocerinsäure vermutet. Nach Brown[79]) beträgt der Ölgehalt der Keime 15 %. Das Öl bestehe aus hochmolekularen Fettsäuren und enthalte bis 83,5 % freie Fettsäuren (berechnet auf Ölsäure). Für das Ranzigwerden des Reisöls sei eine Lipase verantwortlich zu machen.

Neuere Arbeiten japanischer Forscher[81]) befassen sich mit der Hydrolyse der aus Reiskleie (Nuka) gewonnenen Eiweißkörper. Aus der Stickstoffbestimmung der Kleie berechnet sich ein Gehalt an 16,65 % Eiweiß, welches 2,10 % Asche enthielt, und zu 89,24 % in heiße, konzentrierte HCl einging. Der Gesamtstickstoff des Eiweißpräparates verteilt sich wie folgt: 7,48 % als Ammoniak, 32,57 % fällbar durch Phosphorwolframsäure, 50,84 % „anderer" Stickstoff und 9,11 % unlöslich in HCl. Bei der Hydrolyse des Eiweiß wurden 0,3 % Tyrosin, 8,6 % Leucin, 4,7 % Glutaminsäure, 0,88 % Histidin, 3,40 % Arginin, nur wenig Lysin und nur 1,13 % Ammoniak gefunden.

M. Tsujimoto[82]) untersuchte ein Reisöl des Handels, welches aus der Kleie durch Extraktion mit Petroläther gewonnen war. Die Fettsäuren desselben bestanden aus 20 % Palmitinsäure, 45 % Ölsäure und 35 % Isolinolsäure. Das Unverseifbare betrug 4,78 % und schien aus Phytosterin zu bestehen.

Nach Suzuki und Yoshimura[83]) kommt in Pflanzensamen der größte Teil des Phosphors in Form von Phytin vor, während in den Wurzeln, Zwiebeln und im Obst anorganisch gebundener Phosphor vorherrsche. Die untersuchte Reiskleie enthielt ca. 8 % Phytin. Ein wiederholt gereinigtes und mit absolutem Alkohol getrocknetes Präparat von Phytin aus Reiskleie stellte ein nicht hygroskopisches Pulver dar, welches beim Glühen 27,31 % verlor und 23,48 % P, 17,48 % Mg und 5,18 % Ca enthielt. Es war löslich in kaltem Wasser mit schwach saurer Reaktion, leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren, unlöslich in Essigsäure, Methyl- und Aethylalkohol. Eine wäßrige Lösung

gab Fällungen mit „Molybdänlösung“, Bleiazetat und Baryumchlorid; Silbernitrat gab einen in Salpetersäure löslichen weißen Niederschlag.

Aus Samen, welche reich an Kohlenhydraten und Eiweiß sind, lasse sich Phytin mit 0,2 %iger Salzsäure ausziehen, wenn man vorher die Stärke mit phosphorfreier Diastase verzuckert.

L. Bernardini[84]) bestätigte den Befund von Suzuki und Yoshimura, daß der Reisembryo reich an Phosphorverbindungen und besonders an Phytin sei. Der Phosphorgehalt wurde als P_2O_5 in % der Trockensubstanz berechnet und verteilt sich auf die verschiedenen Verbindungen wie folgt: in Form von Lecithin 0,04, „Lecithidin“ 0,22, Phytin 5,14, Nuclein 0,76, anorgan. 0,76 in Summa 6,20 % P_2O_5.

Der fettfreie Reisembryo enthält nach diesem Forscher 7,32 % N, 3,65 % P, 0,32 % SiO_2, 0,08 % Fe_2O_3, 0,37 % CaO, 1,90 % MgO, 2,30 % K_2O, Spuren von MnO. Suzuki, Yoshimura und Takaishi[85]) isolierten aus entfetteter Reiskleie ein Enzym, die Phytase, welches aus Phytin energisch Phosphorsäure und Inosit abspaltet; Formaldehyd konnte nicht nachgewiesen werden, ein weiterer Beitrag, daß die Ansicht Posternaks über die Konstitution des Phytins unhaltbar ist. Die Phytase ist phosphorfrei und zeigt keine diastatische, peptische und tryptische Wirkungen.

Contardi[86]) gewann aus 200 kg Reishüllen ca. 10 kg Phytin in Form von einem weißen Pulver, welches 16,9 % Wasser, 71,7 % Asche und 14,4 % Phosphor enthält. Nach der Reinigung durch Auflösen in verdünnter Salzsäure enthielt es 12,5 % Wasser, 66,1 % Asche, 21,8 % Phosphor, 13,8 % Ca und 8,97 % Mg.

U. Suzuki, T. Shimanura, S. Odake[87]) fanden in der Reiskleie einen von ihnen „Oryzanin“ benannten Körper, welcher bei der Spaltung mittelst Säuren zwei Säuren: „α-Säure“ von der Zusammensetzung $C_{10}H_8O_4N$ (ca. 2 %o), „β-Säure“: $C_{18}H_{16}O_9N_2$ (ca. 0,5 %o der Kleie), sowie Cholin, Nikotinsäure und Glucose liefert.

Die Nikotinsäure komme wahrscheinlich frei in der Kleie vor. Der Gehalt an „Rohoryzanin“ in der Reiskleie betrage ca. 0,4 %; in der Weizenkleie und Haferkleie sei ca. 0,04 %, in der Gerstenkleie ca. 0,08 %, in Hirse und Brassica sei ebenfalls „Oryzanin“ vorhanden.

Oryzanin sei ein für die Erhaltung tierischen Lebens unentbehrlicher Stoff, „ähnlich wie z. B. Eiweiß, Kohlenhydrate, Fette und Salze“, da Versuchstiere mit künstlichen Futter-

gemischen ohne Oryzanin zugrunde gingen, bei Zugabe von Oryzanin sich jedoch wieder erholten und am Leben blieben.

Entkleite Gerste und viele andere Pflanzen enthalten denselben physiologisch wirksamen Stoff (s. Nachtrag S. 79).

6. Mais (Zea Mays L.).

Über die Embryonen von Mais liegen ebenfalls keine ausführlichen Untersuchungen vor, trotzdem diese großen Embryonen leicht vom Korn abzutrennen und in großer Menge rein zu erhalten sind.

Im Nachfolgenden gebe ich außer den vorgefundenen Analysen der Embryonen noch einige wichtigere Arbeiten über Bestandteile der ganzen Samen, soweit sie mir für meine Arbeit von Wert schienen.

Haberlandt[49]) gibt den Fettgehalt der Keime zu 32,94 %, das Gewicht derselben betrug 11,93 % vom Korngewicht.

Moser[88]) fand 11,79 % H_2O, 11,57 % Rohprotein, 4,36 bis 5,49 % Asche, 16,46—17,36 % Fett.

Balland[89]) untersuchte die Zusammensetzung von Schalen, Keimen und Mehlkernen von Maiskorn und fand für die Keime, welche 13,5 % vom Gewicht des Kornes ausmachten, einen Wassergehalt von 7,20 %. Die Trockensubstanz der Keime enthielt 15,33 % „Stickstoffsubstanz“, 39,86 % Fett, 34,95 % stickstofffreie Extraktstoffe, 1,99 % Rohfaser und 7,87 % Asche.

Plagge und Lebbin[90]) geben für die Keime von 2 Maissorten, und zwar

1. weißer amerikanischer Pferdezahnmais mit 8,09 %,
2. großer, gelber, ungarischer Mais mit 8,86 % Stickstoffsubstanz im ganzen Korn folgende Zahlen an:

	Nr. 1	Nr. 2
Gewicht der Keime in % des ganzen Kornes	11,78 %	13,83 %
Gewicht der Keime in mg (berechnet) . .	44,0	48,8
Wasser	6,70 %	9,27 %
Die Trockensubstanz der Keime enthielt		
Stickstoffsubstanz	13,75 %	15,81 %
Fett	29,36 %	22,29 %
Stickstofffreie Extraktstoffe	46,99 %	53,71 %
Asche	7,27 %	8,19 %

Schichowski[91]) gibt für die Zusammensetzung der Asche von Maisembryonen, welche 2,22 % Asche enthielten, folgende Zahlen an:

23,57 % K_2O, 7,9 % CaO, 6,6 % MgO, 0,54 % Fe_2O_3, 41,8 % P_2O_5, 19,4 % SO_3, 0,2 % SiO_2.

Hopkins, Smith u. East[92]) zerlegten Maiskörner, welche vorher in heißem Wasser eingeweicht waren, in 6 Teile und bestimmten die Zusammensetzung der einzelnen Teile. Sie untersuchten drei Sorten von Mais, und zwar:

Nr. 1 mit 9,28 % Eiweiß im ganzen Korn
Nr. 2 „ 10,95 % „ „ „ „
Nr. 3 „ 12,85 % „ „ „ „

und fanden in der Trockensubstanz der Keime:

	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3
Eiweiß	19,91 %	19,80 %	19,56 %
Öl	36,53 %	34,84 %	33,71 %
Kohlenhydrate	33,07 %	35,46 %	36,73 %
Asche	10,48 %	9,90 %	10,00 %
Das Gewicht der Keime in % vom ganzen Korn betrug	9,59 %	11,53 %	11,93 %

Hierbei fällt der hohe Aschengehalt auf; bei den von mir untersuchten Keimen fand ich nur 1,37 % Asche. Schichowski gibt 2,22 % an, und die von Moser gefundenen und auf Trockensubstanz umgerechneten Zahlen sind 4,94 bis 6,22 %.

Dagegen ist der Gehalt an Eiweiß, besonders aber an Fett niedriger als in den von mir untersuchten Embryonen.

Das Fett hatte eine Verseifungszahl von 198,8 bis 203,4 und eine Jodzahl von 122,55.

Nach Rokitanski[93]) enthält Maisöl Ameisensäure, Kapron-, Kapryl-, Kaprin-, Ölsäure und Oxysäuren, während Hopkins[94]) angibt, daß darin „keine flüchtigen Säuren“ vorkommen, dagegen 3,66 % Stearinsäure, 44,85 % Ölsäure, 48,19 % Linolsäure und 1,3 bis 1,4 % Phytosterin enthalten sei; das Phytosterin ist nach Gill u. Tufts[95]) identisch mit Sitosterin, was ich nach meinen Untersuchungen bestätigen kann (s. S. 34).

Die Lecithinmenge des Maiskornes wird von verschiedenen Forschern zu 0,25 bis 0,28 % angegeben, v. Bitto[96]) gibt 0,48 % an. Das „Lecithin“ ist aus dem Gehalt an ätherlöslichem Phosphor berechnet. Für den Embryo berechnet sich hieraus 1,64 bis 2,25 %, für das Öl 3,3 bis 4,5 % „Lecithin“. Stocklasa[97]) berechnete für verschiedene Samen das Verhältnis des Lecithingehaltes zu dem Gehalt an Eiweiß und Fett und findet z. B., daß das Fett im Mais 6,4 %, dasjenige in Triticum 35,1 % Lecithin enthalte.

A. Stellwaag[98]) gibt den Gehalt des Unverseifbaren im Maisfett zu 3,74 %, den Gehalt an freien Fettsäuren zu 6,67 % an.

Eine ausführliche Zusammenstellung der Untersuchungen von Maisöl, welches ja einen großen Teil der Embryonen ausmacht, findet sich bei Benedikt Ulzer,[99]) worauf hier nur verwiesen sei.

Hart u. Tottingham[100]) stellten Untersuchungen über die Natur der säurelöslichen phosphorhaltigen Bestandteile in Futtermitteln an und konnten Phytin in Samen von Zea Mays, Avena sativa und Hordeum sativum nachweisen.

In den untersuchten Samen fand sich das Phytin auf alle Teile des Kornes verteilt, während es im Weizen hauptsächlich in der Fruchtschale vorkomme. Auf das Phytin kamen 38 bis 48 % des gesamten Phosphors.

Will u. Krauch[101]) wiesen im Embryo von Mais größere Mengen von Diastase nach. Linz[102]) fand die Diastase hauptsächlich im Schildchen des Embryo und konstatierten eine starke Vermehrung derselben während des Keimens.

Abderhalden u. Dammhahn[103]) nehmen an, daß im Maiskorn kein peptolytisches Ferment vorkomme, da in ungekeimten Maiskörnern keine Spaltung der Eiweißkörper stattfinde (vgl. S. 60).

Nach Sherman Leavitt u. Le Clerc[104]) verliert Mais beim Lagern im ungemahlenen Zustande in einem Jahre ca. 60 %, im gemahlenen Zustande ca. 80 % des gesamten Zuckergehaltes. Die alkohollöslichen und die wasserlöslichen Stickstoffverbindungen nehmen in zwei Jahren um ca. 50 % ab, während der Gesamtstickstoffgehalt praktisch unverändert bleibt.

Anschließend an diese sich hauptsächlich auf die Embryonen beziehenden Befunde teile ich noch einige wichtigere Ergebnisse der Untersuchungen von Eiweißkörpern des ganzen Samens mit.

Die Samen der Cerealien unterscheiden sich bekanntlich von denen anderer Kulturpflanzen dadurch, daß sie eine große Menge von in verdünntem, warmem Alkohol löslichen Proteinsubstanzen enthalten, in deren Molekül entweder gar kein Lysin oder nur Spuren davon gefunden werden.

Außerdem kommen in den Samen der Cerealien noch in verdünnten Laugen lösliche und geringe Mengen wasserlöslicher Eiweißsubstanzen vor.

Nach Osborne[105]) enthalten die Maissamen:

5 % in Alkohol lösliche Eiweißsubstanzen (Zein),
3,15 % in verdünnten Alkalien lösliche Eiweißsubstanzen,
0,45 % in Wasser lösliche Eiweißsubstanzen.

Zein wurde von Osborne u. Clapp[106]) wie folgt gewonnen:

Die Samen wurden mit 85 %igem Alkohol extrahiert, das Filtrat unter vermindertem Druck eingedunstet und der so er-

haltene Syrup in eiskalte, verdünnte Kochsalzlösung eingegossen, wobei sich eine plastisch zusammenballende Masse bildete, welche mit Wasser gewaschen wurde. Der Rückstand wurde in 95 %igem Alkohol gelöst und mit Petroläther ausgeschüttelt. Aus der so erhaltenen Alkohollösung wurde die Eiweißsubstanz durch Ausfällen mit Wasser gewonnen. Aus dem mit Alkohol extrahierten Material wurde durch Extraktion mit 0,2 %iger Natronlauge das alkalilösliche Protein dargestellt, indem das alkalische Filtrat mit verdünntem HCl schwach angesäuert, der entstandene Niederschlag mit Wasser ausgewaschen, wiederholt mit Alkohol behandelt wurde, um eventuelle Spuren von Zein zu entfernen.

Die Aminosäuren wurden nach der Estermethode von E. Fischer bestimmt, die Basen nach bekannten Methoden von Kossel, Kutscher und anderen isoliert.

Die Verfasser beobachteten, daß bei der Spaltung des von ihnen dargestellten Zeins bedeutend weniger Tyrosin entstand, als Kutscher[107]) erhalten hatte. Sie machen daher genaue Angaben über die Darstellung des Tyrosins.

Folgende Tabelle gibt die Ausbeuten von den Spaltungsprodukten an (zum Vergleich ist Hordein mit aufgeführt).

	Alkalilösl. Protein aus Maissamen %	Zein %	Hordein %
Glykokoll	0,25	0,00	0,00
Alanin	nicht isoliert	2,23	0,43
Valin	„ „	0,29	0,13
Leucin	6,22	18,60	5,67
Prolin	4,99	6,53	13,73
Phenylalanin	1,74	4,87	5,03
Asparaginsäure	0,63	1,41	nicht isoliert
Glutaminsäure	12,72	18,28	36,35
Serin	nicht isoliert	0,57	nicht isoliert
Tyrosin	3,78	3,55	1,67
Arginin	7,06	1,16	2,16
Histidin	3,00	0,43	1,28
Lysin	2,93	0,00	0,00
Ammoniak	2,12	3,61	4,87
Tryptophan	vorhanden	0,00	vorhanden

Die Verfasser machen darauf aufmerksam, daß die dem Zein fehlenden Aminosäuren alle im alkalilöslichen Protein vorkommen, somit eine Mischung der im Maissamen befindlichen Proteine alle Aminosäuren enthält, welche gewöhnlich aus Proteinsubstanzen erhalten werden.

Nach A. Meyer[108]) sind die alkohollöslichen Proteide (Kleberproteide) nur im Mehlendosperm der Gramineensamen enthalten. Daher sei es falsch, die Aleuronzellen, in denen keine Spur dieser Proteide vorkommt, als „Kleberzellen“ zu bezeichnen.

Literaturnachweis.

[1]) Landwirtsch. Versuchsstation 46. 49 (1895), 47. 449 (1896).
[2]) ib. 45. 307 (1894).
[3]) Z. f. physiol. Chem. 34. 461 (1892).
[4]) B. 27. 64 (1894).
[5]) Z. f. physiol. Chem. 20. 511 (1895).
[6]) Landwirtsch. Versuchsstation 47. 449 (1896).
[7]) ib. 46. 49 (1895).
[8]) B. 19. 1180 (1886).
[9]) B. 26. 2151 (1893).
[10]) Z. f. physol. Chem. 41. 455 (1904), ib. 60. 155 (1909); Landwirtsch. Versuchsstation 56. 1 (1895).
[11]) B. 19. 1180 (1886).
[12]) Z. f. physiol. Chem. 20. 535 (1895).
[13]) ib. 34. 461 (1892), s. a. Burian, Monatshefte f. Chem. 18. 551 (1897).
[14]) A. Welsch, Diss. Freiburg 1909.
[15]) König, Chemie der Nahrungs- und Genußmittel 1903 I. 415.
[16]) J. König, Nahrungs- und Genußmittel 1893. 461.
[17]) Chem. Ztg. 22. 967 (1898).
[18]) Z. f. physiol. Chem. 36. 131 (1902).
[19]) Journ. Americ. Chem. Soc. 22. 379 (1900), s. a. F. Schulze, Ann. 109. 180 (1859).
[20]) Biochemie der Pflanzen II. 737 (1904).
[21]) Just. bot. Jahresber. 1886 I. 134.
[22]) Z. f. physiol. Chem. 58. 522 (1909).
[23]) Z. f. ges. Brauwesen 11. 37 (1909).
[24]) Z. f. physiol Chem. 36. 85 (1902).
[25]) Levene u. Medigreceanu, Biochem. Z. 27. 127 (1910); Schittenhelm u. Wiener, Z. f. physiol. Chem. 77. 78 (1912).
[26]) Journ. Americ. Chem. 16. 123 (1894).
[27]) ib. 29. 505 (1903).
[28]) Amer. Journ. of Physiol. 21. 157 (1908).
[29]) Biochem. Z. 17. 120 (1909); B. 42. 2469, 2474, 2703 (1909), B. 43. 3150, 3164 (1910), B. 44. 1027 (1911).
[30]) B. 42. 2476 (1909).
[31]) B. 42. 2473, 2475 (1909).
[32]) Z. f. physiol. Chem. 70. 143 (1910).
[33]) B. 42. 2703 (1909), 43. 3153 (1910).
[34]) B. 43. 3150 (1910), B. 44. 1031 (1911), B. 45. 611 (1912).
[35]) B. 43. 3150 (1910), B. 45. 613 (1912).
[36]) B. 41. 1905 (1908), B. 43. 699 (1910), B. 44. 1027 (1911).
[37]) B. 42. 2469, 2474 (1909).
[38]) B. 44. 1027 (1911).
[39]) B. 45. 608 (1912).
[40]) B. 45. 699 (1912).
[41]) B. 43. 3164 (1910).
[42]) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden II. 581 (1910).

[43]) ib. II. 575 (1910).
[44]) ib. II. 597 (1910).
[45]) Z. f. physiol. Chem. 69. 259 (1910).
[46]) ib. 77. 79 (1912).
[47]) ib. 36. 106 (1902).
[48]) Wiener landwirtsch. Ztg. 1873 Nr. 5.
[49]) ib. 1873 Nr. 5.
[50]) Compt. rend. 115. 246. 116. 995.
[51]) Just. bot. Jahresber. 1890 I. 44.
[52]) C. 1897 I. 63.
[53]) C. 1912 I. 533.
[54]) Sitzungsber. Wien. Akad. 42 (1885).
[55]) Ber. Bot. Ges. 8. 40 (1890).
[56]) Angewandte Pflanzenanatomie 81.
[57]) Journ. Chem. Soc. 57. 508 (1890).
[58]) ib. 57. 459 (1890).
[59]) Z. f. ges. Brauwesen 1895. 325.
[60]) C. 1893 I. 837.
[61]) C. 1886. 614.
[62]) Journ. Chem. Soc. 35. 609 (1879).
[63]) Wschr. f. Brauerei 1897 Nr. 26 u. 33, 1898 Nr. 7.
[64]) Just. bot. Jahresber. 1889 I. 41.
[65]) B. 8, 202, 387 (1875).
[66]) Journ. Chem. Soc. 16. 61 (1900).
[67]) Compt. rend. 142. 108, 143, 234; C. 1906 I. 565.
[68]) Arch. d. Pharm. 244. 435 (1906).
[69]) B. 43. 306 (1910).
[70]) C. 1910 I. 660.
[71]) B. 45. 1004 (1912).
[72]) Arch. Farmacol. Sperim. 10. 62; C. 1911 I. 66.
[73]) Biochem. Z. 31. 221 (1911)
[74]) B. 26. 2151 (1893).
[75]) Z. f. ges. Brauwesen 35. 181 (1912).
[76]) Monatshefte f. Chemie III. 672 (1882).
[77]) ib. 18. 577 (1897).
[78]) Landwirtsch. Versuchsstation 72. 427 (1910).
[79]) Journ. Amer. Chem. Soc. 25. 948 (1903).
[80]) Just. bot. Jahresber. 1883 I. 119.
[81]) U. Suzuki, K. Yoshimura u. S. Fuji, Journ. Tokyo Chem. Soc. Vol. 29 Nr. 3 (1908).
[82]) Chem. Rev. Fett- und Harzind. 18. 111 (1911); C. 1910 I. 1646.
[83]) Bull. Colleg. Agric. Tokyo 7. 495 (1907); C. 1907 II. 1636.
[84]) R. Atti, Accad. dei Linc. Roma (1912) [5] 21. I. 283; C. 1912 I. 1126.
[85]) Bull. Coll. Agric. Tokyo 7. 503 (1907); C. 1907 II. 1637.
[86]) R. Atti, Accad. d. Linc. Roma (1909) [5] 18. I. 64; C. 1909 I. 1102, 1156.
[87]) Biochem. Z. 43. 89 (1912); Journ. Agric. Tokyo Bd. 5. 59 (1913).
[88]) Jahresber. Agr. Chem. 1878. 750.
[89]) Compt. rend. 122. 1004 (1896); C. 1896 I. 1281.
[90]) Veröffentl. aus d. Gebiete des Militärsanitätswesens Heft 12. 190 (1897) zit. nach König, Chemie der menschl. Nahrungs- u. Genußmittel I. 588 (1903).
[91]) Arbeit. Petersburg. Naturforscherges. 14. 1 (1883).
[92]) Journ. Amer. Chem. Soc. 25. 1166 (1602).
[93]) C. 1895 I. 22.

[94]) C. 1899 I. 412.
[95]) Journ. Amer. Chem. Soc. 25. 251, 254 (1903).
[96]) Z. f. physiol. Chem. 19. 489 (1894).
[97]) Sitzungsber. Wien. Akad. 104. I. 617 (1896).
[98]) Landwirtsch. Versuchsstation 37. 135 (1890).
[99]) Benedikt-Ulzer, Chemie der Fette und Wachsarten 3. Aufl. S. 624.
[100]) Journ. of biol. Chem. 6. 431 (1909); C. 1909 II. 1755.
[101]) Landwirtsch. Versuchsstation 23. 77 (1879).
[102]) Jahresber. wissensch. Bot. 29. 267 (1896).
[103]) Z. f. physiol. Chem. 57. 336 (1908).
[104]) Journ. of Ind. and Engl. Chem. I. 299 (1909); C. 1909 II. 1818.
[105]) Journ. Amer. Chem. Soc. 19. 525 (1897).
[106]) Amer. Journ. of Physiol. 20. 1. (1907).
[107]) Z. f. physiol. Chem. 38. 111 (1903).
[108]) Just. bot. Jahresber. 1887 II. 557.

II. Die Untersuchung von Maisembryonen.

Einleitung.

Das zur Untersuchung gelangte Material wurde uns durch Herrn H. C. Humphrey von der Firma „Corn Products Refining Company, Neuyork“ zur Verfügung gestellt. Es sei mir gestattet, Herrn Humphrey und der Corn Products Refining Company auch auf diesem Wege meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Das Material wurde in zwei Sendungen zugestellt. Die erste Sendung, welche ich mit A bezeichne, bestand aus schon gemahlenen Keimen, während wir bei der zweiten Sendung ganze und nach der gütigen Untersuchung von Professor Dr. C. Schellenberg vollkommen unverletzte Embryonen erhielten. Dieses Material, welches mit B bezeichnet sei, wurde zur quantitativen Analyse und verschiedenen andern Versuchen sorgfältig ausgelesen und von der ca. 4,9 % betragenden Beimengung (49,49 g Keime enthielten 2,423 g = 4,90 % Beimengungen) getrennt. Die Beimengung bestand größtenteils aus Bruchstücken der Chalaza und aus Samenschalen, nur hin und wieder kamen kleine Teilchen von Endosperm vor.

Material A war auf Veranlassung von Professor Winterstein frisch hergestellt, bei 112 ° F getrocknet und in zugelöteten Blechbüchsen auf schnellstem Wege herbefördert worden, um eine Veränderung tunlichst zu vermeiden.

Zur qualitativen Untersuchung war eine größere Menge extrahierten Materials erforderlich. Da zur Extraktion großer Mengen im hiesigen Laboratorium die Einrichtung fehlt, so wurde sofort nach Ankunft des Materials der Firma Blattmann & Cie., Chem. Fabrik in Wädensweil, hierzu der Auftrag erteilt, welche

in dankenswerter Weise die Extraktion mit Äther und Alkohol nach genauer Vorschrift ausführte.

Die bei niedriger Temperatur von den Lösungsmitteln befreiten Extrakte sowie das extrahierte Material wurden uns wieder gut verschlossen zurückgesandt.

Diese Keime können nicht als völlig frei von anhaftenden Beimengungen bezeichnet werden, da sie mit technischen Mitteln isoliert wurden und uns in gemahlenem Zustande gesandt worden waren.

16,84 kg Ausgangsmaterial gaben bei der Extraktion 8 kg Ätherextrakt, 2,08 kg Alkoholextrakt und 6,76 kg = ca. 40,1 % entfettetes, mit Alkohol extrahiertes Material.

Material B wurde nach dem Mahlen mit verschiedenen Lösungsmitteln je nach Bedarf entfettet, worüber an den betreffenden Stellen Näheres mitgeteilt ist.

1. Quantitative Untersuchung.

A. Material A.

a) Bestimmung der Trockensubstanz.

Zur quantitativen Bestimmung der Trockensubstanz und des Rohfettes von Material A wurden ca. 150 g im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure 3 Wochen lang unter öfterem Umrühren getrocknet und hierbei gefunden:

1. 70,98 g Substanz verloren 2,11 g = 2,97 % Feuchtigkeit
2. 79,33 g Substanz verloren 2,38 g = 3,00 % Feuchtigkeit

Mittel: 2,99 % Feuchtigkeit.

Das im Vakuum getrocknete Material wurde bei 105° im trockenen Wasserstoffstrom bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gefunden:

4,8439 g Substanz gaben 4,8048 g Trockensubstanz = 0,0391 g = 0,81 % Feuchtigkeit des im Vakuum getrockneten Materials = 0,79 % vom lufttrockenen Material.

Somit beträgt die Gesamtfeuchtigkeit:

2,99 + 0,79 = 3,78 %

96,22 % Trockensubstanz.

b) Fettbestimmung im Material A.

Das im Vakuum von der Hauptmenge der Feuchtigkeit befreite Material wurde zur Rohfettbestimmung im eingeschliffenen Soxhletapparat 8 Stunden mit wasserfreiem Äther extrahiert, hierauf der Äther aus dem den Extrakt enthaltenden, vorher

gewogenen Kölbchen unter Einleiten von trockenem Wasserstoff bis zum Eintritt von Gewichtskonstanz abdestilliert.

1. 7,2711 g Substanz gaben 3,8696 g = 53,22 % Rohfett
2. 6,2408 g Substanz gaben 3,2948 g = 52,80 % Rohfett

Mittel: 53,01 % Rohfett.

Auf Trockensubstanz umgerechnet = 53,44 % Rohfett.

c) Phosphor- und Stickstoffbestimmung im Äther- und im Alkoholextrakt.

Hierzu wurde das im Vakuum getrocknete Material A verwendet, welches 1,01 % Feuchtigkeit besaß.

5,0414 g Substanz gaben beim Trocknen im Platinschiff im Wasserstoffstrom bei 105°: 0,0500 g ab = 1,01 % Feuchtigkeit.

29,985 g vakuumtrockne Substanz = 29,686 g Trockensubstanz, wurden 13 Stunden mit wasserfreiem Äther extrahiert und gaben 16,354 g Ätherextrakt, welcher abfiltriert und im Wasserstoffstrom bei 105° getrocknet, 16,013 g = 54,28 % Rohfett enthielt.

Eine zweite Fettbestimmung mit 26,474 g von im Wasserstoffstrom getrocknetem Material A gab 14,321 g klaren, trockenen Ätherextrakt = 54,12 % Rohfett.

Im Mittel: 54,20 % Rohfett.

Der Ätherextrakt von der ersten Fettbestimmung = 16,013 g Rohfett, wurde in Äther gelöst, auf 150 ccm aufgefüllt und je 25 ccm zur Bestimmung von Stickstoff und Phosphor verwendet.

α) Stickstoffbestimmung im Ätherextrakt.

2,7020 g Rohfett nach Kjeldahl verbrannt, verbrauchten

$$0{,}02 \text{ ccm } \frac{n}{2} \text{ HCl} = 0{,}00028 \text{ g N} = 0{,}01\,\% \text{ N.}$$

Dies entspricht also einem Gehalt an „ätherlöslichem Stickstoff“ von nur ca. 0,005 % im Ausgangsmaterial.

β) Phosphorbestimmung im Ätherextrakt.

1. 2,711 g Rohfett mit Salpeter-Sodamischung verbrannt, in verdünnter Salzsäure gelöst und Phosphorsäure nach B. Schmitz mit Magnesiamixtur gefällt, gab

0,0079 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,081 % P.

Rohfett = 0,081 % P = 2,11 % Lecithin (als Distearyllecithin berechnet).

Für Ausgangsmaterial berechnet:

0,044 % P = 1,14 % Lecithin.

2. 2,720 g Rohfett, wie oben verbrannt, in Salpetersäure gelöst, nach Woy mit Ammonmolybdat gefällt, Phosphormolybdat gelöst in Ammoniak und gefällt nach Schmitz mit Magnesiamixtur (s. Treadwell, Lehrb. der quantitativen Analyse), gab

$$0{,}0037 \text{ g } Mg_2P_2O_7 = 0{,}038\,\% \text{ P.}$$
$$\text{Rohfett } 0{,}038\,\% \text{ P} = 0{,}99\,\% \text{ Lecithin}$$

oder berechnet auf trockenes Ausgangsmaterial:

$$0{,}02\,\% \text{ P} = 0{,}54\,\% \text{ Lecithin.}$$

γ) Bestimmung des Phosphors im Alkoholextrakt.

Rückstand von obiger Ätherextraktion, 3 mal je $^1/_2$ Stunde mit absolutem Alkohol ausgekocht, abfiltriert, Filtrat vom Alkohol befreit, der Verdampfungsrückstand des Alkohols mit Salpeter-Sodamischung verbrannt, in verdünnter Salpetersäure gelöst, mit Ammonmolybdat nach Woy gefällt, Phosphormolybdat gelöst in Ammoniak, Lösung mit Magnesiamixtur nach Schmitz gefällt, gab 0,0208 g $Mg_2P_2O_7 = 0{,}02\,\%$ P (im Ausgangsmaterial 29,685 g) = ca. 0,54 % Distearyllecithin.

In den Alkoholextrakt ging also ungefähr gleichviel Phosphor ein, wie in den Ätherextrakt (vgl. S. 36).

d) Quantitative Bestimmung des Unverseifbaren im Ätherextrakt des Materials A.

41,545 g des auf warmem Sandbad im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure ca. 4 Stunden getrockneten Ätherextraktes wurden mit 100 ccm absolutem Alkohol erwärmt, hierzu eine Lösung von 8 g Natrium in 160 ccm absolutem Alkohol gefügt, auf dem Wasserbad erwärmt, Alkohol vertrieben, die entstandenen Seifen bei 80° getrocknet, fein zerrieben und ca. 12 Stunden mit Äther extrahiert. Nach dem Verjagen des Äthers verblieb ein gelblicher, salbenähnlicher Rückstand, welcher mit wenig Alkohol und ca. 700 ccm Wasser versetzt, milchige Trübung gab; nach dem Absitzen, Filtrieren und Trocknen wurden so 0,750 g = 1,81 % des Ätherextraktes als Unverseifbares erhalten. Beim Versuch der Umkristallisation löste sich nicht alles im 90 %igen Alkohol, es verblieb eine wachsartige, rötlichgelbe Masse, welche löslich in Äther und in Chloroform war und 0,149 g = 0,36 % betrug, während 0,601 g = 1,45 % in verdünntem Alkohol löslich waren.

e) Aschenbestimmung.

4,804 g Trockensubstanz gaben 0,065 g = 1,37 % Asche.

f) Trockensubstanzbestimmung des entfetteten Materials.

Da zur Untersuchung der stickstoffhaltigen Verbindungen das entfettete, mit Alkohol extrahierte Material A verwendet wurde, so war auch hiervon eine Trockensubstanzbestimmung nötig, welche genau wie beim Ausgangsmaterial ausgeführt wurde.

2,9797 g gaben 2,6888 g Trockensubstanz = 0,2909 g
oder 9,76 % Feuchtigkeit.

g) Stickstoffbestimmungen im Material A.

Schon bei der ersten quantitativen Bestimmung des Stickstoffes wurde gefunden, daß nur geringe Mengen desselben als sogen. Basenstickstoff in den Phosphorwolframsäureniederschlag gehen. Da aber bei späteren Versuchen noch weit weniger Basen isoliert werden konnten, als dem gefundenen Stickstoff entsprach, so wurden diese Bestimmungen einige Mal wiederholt.

Das lufttrockene, entfettete, mit Alkohol extrahierte Material A wurde nach Kjeldahl mit salpetersäurefreier Schwefelsäure unter Zugabe von Kupferoxyd verbrannt, das Ammoniak mit 30 %iger Natronlauge ausgetrieben und in abgemessener $\frac{n}{2}$ HCl (Faktor 0,9327) aufgefangen, mit $\frac{n}{5}$ NaOH (Faktor 0,9919) unter Anwendung von Methylorange als Indikator zurücktitriert.

10 ccm $\frac{n}{5}$ NaOH = 4,25 ccm $\frac{n}{2}$ HCl,

1 ccm HCl (F 0,9327) = 0,006534 g N.

α) Gesamtstickstoff.

1. 0,9654 g Substanz verbrauchten 6,06 ccm HCl =
= 0,03955 g N = 4,10 % N.

2. 0,9291 g Substanz = 5,94 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
= 0,03872 g N = 4,16 % N.

Im Mittel 4,13 % N in lufttrockener Substanz,
oder von der Trockensubstanz:
4,47 % Gesamtstickstoff.

β) Eiweißstickstoff.

Diese Bestimmung wurde nach Stutzer ausgeführt. Die Substanz wurde mit 200 ccm destilliertem Wasser auf dem Wasserbade schwach erwärmt, event. vorhandene lösliche Phos-

phate mit ammoniumfreiem Aluminiumsulfat gebunden, um bei Zugabe von $Cu(OH)_2$ ein Freiwerden von Alkalihydroxyden zu verhindern, hierauf die Eiweißkörper mit einem Überschuß von geschlämmtem Kupferhydroxyd gefällt, nach dem Erkalten filtriert, abgesaugt und gut ausgewaschen. Der Rückstand wie oben nach Kjeldahl verbrannt, gab folgendes:

1. 1,5078 g Substanz verbrauchten 9,18 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
$= 0{,}059\,85$ g N $= 3{,}97\,\%$ N.

2. 1,5732 g Substanz verbrauchten 9,36 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
$= 0{,}061\,09$ g N $= 3{,}88\,\%$ N.

Mittel: $3{,}93\,\%$ N oder von der Trockensubstanz
$4{,}26\,\%$ Eiweißstickstoff.

γ) Basenstickstoff (inklusive Ammoniak).

Das von der Eiweißbestimmung verbliebene Filtrat wurde mit so viel reiner Schwefelsäure versetzt, daß die Lösung $5\,\%$ davon enthielt, hierauf Phosphorwolframsäure zugefügt, wobei nur eine sehr geringe Fällung auftrat. Daher wurde eine größere Menge Substanz abgewogen, das Eiweiß, wie oben angegeben, nach Stutzer ausgefällt, das Filtrat davon mit Schwefelsäure $5\,\%$ig gemacht, mit Phosphorwolframsäure versetzt, nach einigen Stunden der Niederschlag abgesaugt mit $5\,\%$iger H_2SO_4 ausgewaschen und unter Zugabe von viel CuO nach Kjeldahl verbrannt. Hierbei wurde gefunden:

1. 5,6642 g Substanz verbrauchten 0,86 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
$= 0{,}005\,61$ g N $= 0{,}099\,\%$ N.

2. 5,1154 g Substanz verbrauchten 0,75 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
$= 0{,}004\,90$ g N $= 0{,}096\,\%$ N.

Mittel: $0{,}097\,\%$ N oder von der Trockensubstanz
$0.10\,\%$ Basenstickstoff inkl. Ammoniak.

h) Resultat der Stickstoffbestimmung des entfetteten und mit Alkohol extrahierten Materials A.

		vom Gesamtstickstoff
Eiweißstickstoff	$4{,}26\,\%$	$95{,}30\,\%$
Organ. Basen (inkl. Ammoniakstickstoff)	$0{,}10\,\%$	$2{,}24\,\%$
Anderer Stickstoff	$0{,}11\,\%$	$2{,}46\,\%$
Gesamtstickstoff	$4{,}47\,\%$	$100{,}00\,\%$

Diese Zahlen geben nur ein vorläufiges Bild über Menge und Verteilung des Stickstoffes in den Maiskeimen, da kleine Mengen der stickstoffhaltigen Substanzen in den Alkohol und in den Äther eingegangen sind. Immerhin ist schon aus obigem zu ersehen, daß organische Basen und andere nichteiweißartige, stickstoffhaltige Verbindungen nur in geringen Mengen vorkommen, was auch durch die qualitativen Untersuchungen bestätigt wurde. Ähnliche Verhältnisse scheinen auch beim Reis zu bestehen, wie die Stickstoffbestimmungen von Suzuki und Mitarbeitern ergeben haben.

i) Stickstoffbestimmung von nur mit Äther extrahiertem Material A.

1090 g lufttrockenes Material A = 1048 g Trockensubstanz wurden 2 mal je 10 Stunden mit Äther extrahiert. Es wurden 2,9 l Ätherflüssigkeit erhalten. Der mit Äther extrahierte Rückstand betrug 540 g lufttrocken = 462 g Trockensubstanz.

8,528 g lufttrockener Rückstand verloren beim Trocknen auf 105° 1,174 g = 14,56 % Feuchtigkeit.

α) Gesamtstickstoff.

1. 1,2444 g lufttrockene = 1,0620 g Trockensubstanz nach Kjeldahl verbrannt, verbrauchten

$$5{,}75 \text{ ccm } \frac{n}{2} \text{ HCl (Faktor } 1{,}2265) = 0{,}049\,54 \text{ g N} = 4{,}66\,\% \text{ N.}$$

2. 1,2180 g lufttrockene = 1,0400 Trockensubstanz verbrauchten

$$5{,}75 \text{ ccm } \frac{n}{2} \text{ HCl} = 0{,}049\,54 \text{ g N} = 4{,}76\,\% \text{ N.}$$

Mittel: 4,71 % Gesamtstickstoff.

β) Eiweißstickstoff.

1. 4,8954 g lufttrockene = 4,1810 g Trockensubstanz wurden in Wasser suspendiert, welchem Kali-Alaun zum Binden der Phosphorsäure zugefügt war, nach Stutzer gefällt, nach mehrstündigem Stehen in der Kälte abfiltriert. Rückstand, nach Kjeldahl verbrannt, verbrauchte

$$19{,}22 \text{ ccm } \frac{n}{2} \text{ HCl} = 0{,}1653 \text{ g N} = 3{,}95\,\% \text{ N.}$$

2. 5,7930 g lufttrockene = 4,9580 g Trockensubstanz verbrauchten

22,57 ccm $\frac{n}{2}$ HCl = 0,1941 g N = 3,91 % N.

Mittel: 3,93 % Eiweißstickstoff.

γ) Basenstickstoff.

Die Filtrate und das eingedunstete Waschwasser von der Eiweißbestimmung wurden mit Schwefelsäure 5 %ig gemacht und mit konzentrierter Phosphorwolframsäure gefällt, nach 24 Stunden abfiltriert, abgesaugt, mit 5 %iger Schwefelsäure gewaschen, nach Kjeldahl verbrannt:

1. 4,9580 g Trockensubstanz verbrauchten 1,85 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
= 0,015 91 g N = 0,32 % N.
2. 4,2400 g Trockensubstanz verbrauchten 1,52 ccm $\frac{n}{2}$ HCl =
= 0,013 07 g N = 0,31 % N.

Mittel: 0,32 % Basenstickstoff.

k) Verteilung des Stickstoffes im nur mit Äther extrahierten Material A.

		Auf Ausgangsmaterial bezogen		
3,93 %	Eiweiß-N . .	ca. 1,812 %	83,44 %	vom Gesamt-N
0,32 %	Basen- und Ammoniak-N .	0,147 %	6,79 %	„ „
0,46 %	anderer N . .	0,211 %	9,77 %	„ „
4,71 %	Gesamt-N . .	ca. 2,170 %		

B. Analysen des Materials B (ausgelesene und gereinigte Keime).

Die sorgfältig ausgelesenen Embryonen wurden auf einer Handmühle gemahlen und dann zu den verschiedenen quantitativen Bestimmungen verwendet.

a) Trockensubstanzbestimmung.

4,7774 g verloren beim Trocknen im Wasserstrom auf 105° 0,2408 g. Daher Feuchtigkeit 5,03 %.

5,1600 g verloren 0,2614 g. Feuchtigkeit 5,07 %.

Mittel: 5,05 % Feuchtigkeit. 94,95 % Trockensubstanz.

b) Stickstoffbestimmungen.

Verbrennungen nach Kjeldahl titriert mit $\frac{n}{2}$ HCl.

(1 ccm HCl = 0,000 86 g N).

Gesamtstickstoff.

1. 1,3941 g Substanz = 1,3236 g trocken, verbrauchten 3,27 ccm HCl = 0,028 12 g = 2,12 % N.
2. 1,2886 g = 1,2235 g Trockensubstanz verbrauchten 2,68 ccm HCl = 0,023 05 g = 1,88 % N.

Mittel: 2,00 % Gesamtstickstoff.
(ca. 4,61 % auf entfettete Keime berechnet).

c) Fettbestimmung.

1. 57,12 g = 54,33 g Trockensubstanz im Soxhlet-Apparat 10 Stunden mit Äther extrahiert, Äther verdunstet, Rückstand getrocknet bis Gewichtskonstanz, gab 30,7452 g = 56,63 % Rohfett.
2. 39,07 g = 37,09 g Trockensubstanz, wie 1. behandelt, gab 21,0345 g = 56,75 % Rohfett.

Mittel: 56,69 % Ätherextrakt. 43,31 % entfettete Keime.

d) Trockensubstanzbestimmung der entfetteten reinen Keime.

1. 3,0585 g lufttrockene Substanz verloren beim Trocknen im Glyzerinbad bei 105° im Wasserstoffstrom 0,2140 g = 7,00 % Feuchtigkeit.
2. 3,9306 g verloren 0,2798 g = 7,12 %.

Mittel: 7,06 % Feuchtigkeit. 92,94 % Trockensubstanz.

e) Stickstoffbestimmung von entfetteten ausgelesenen Keimen.

α) Gesamtstickstoff.

1. 1,0272 g = 0,9548 g Trockensubstanz nach Kjeldahl verbrannt, verbrauchten 5,58 ccm HCl = 0,0480 g = 5,02 % N.
2. 1,0001 g = 0,9295 g Trockensubstanz verbrauchten 5,39 ccm HCl = 0,0463 g = 4,98 % N.

Mittel: 5,00 % Gesamtstickstoff.

β) Eiweißstickstoff.

Das entfettete Material wurde mit Wasser angerührt, im Wasserbade erwärmt, 2—3 ccm konzentrierter Kalialaunlösung

zugefügt und nach Stutzer mit gefälltem Kupferhydroxyd versetzt, nach einigen Stunden abgesaugt, gewaschen, der Rückstand nach Kjeldahl verbrannt.

1. 4,4704 g = 4,1550 g Trockensubstanz verbrauchten 22,29 ccm HCl = 0,1829 g = 4,40 % N.
2. 5,0604 g = 4,7031 g Trockensubstanz verbrauchten 29,98 ccm HCl = 0,2078 g = 4,42 % N.

Mittel: 4,41 % Eiweißstickstoff nach Stutzer.

γ) Basenstickstoff.

Filtrat und eingeengtes Waschwasser von der Eiweißfällung mit Schwefelsäure 5 %ig gemacht, mit Phosphorwolframsäure gefällt, nach 24 Stunden abgesaugt, mit 5 %iger Schwefelsäure gewaschen, nach Kjeldahl verbrannt:

1. 4,1550 g verbrauchten 2,50 ccm HCl = = 0,0215 g N = 0,52 % N.
2. 4,7031 g verbrauchten 2,53 ccm HCl = = 0,02176 g N = 0,46 % N.

Mittel: 0,49 % N fällbar durch Phosphorwolframsäure.

f) Resultat der Stickstoffbestimmung in entölten reinen Keimen.

		Vom Gesamtstickstoff
Gesamtstickstoff	5,00 %	
Durch Kupferhydroxyd fällbar . .	4,41 %	88,2 %
Durch Phosphorwolframsäure fällbar	0,49 %	9,8 %
Anderer Stickstoff	0,10 %	2,0 %

C. Lösliche Kohlenhydrate.

2,3295 g der mit Äther extrahierten Trockensubstanz des Materials A (s. S. 27 unter i) wurden einige Stunden mit Wasser von 40—50° digeriert und hierauf abfiltriert. Der Rückstand wog getrocknet 2,1446 g. Die Trockensubstanz enthielt demnach 0,1849 g = 7,93 % Wasserlösliches. Das Filtrat wurde zur Entfernung der Eiweißkörper mit Bleiessig versetzt, solange noch eine Trübung entstand, und auf 500 ccm aufgefüllt. 50 ccm der überstehenden, klaren Flüssigkeit gaben beim Kochen mit Allihnscher Lösung nur unwägbare Spuren von reduziertem Kupfer. Auch nach dreistündigem Kochen von 250 ccm der klaren Flüssigkeit mit 5 %iger Schwefelsäure wurde die Allihnsche Lösung nur in Spuren reduziert, so daß nachweisbare Mengen von wasserlöslichen Kohlenhydraten nicht vorhanden sind.

D. Untersuchung auf Pentosen.

50 g lufttrockene, ausgelesene Keime des Materials B = 47,55 g Trockensubstanz wurden auf 85—90° erwärmt, mit 180 ccm Wasser von 85° digeriert, nach 10 Minuten abgepreßt und 3 mal mit heißem Wasser ausgewaschen. Der Preßsaft wurde nochmals filtriert, abgesaugt und vom überstehenden Fett abgelassen. Das Filtrat von 274 ccm war etwas trüb, zeigte saure Reaktion und gab im Gegensatz zur Autolysenflüssigkeit (s. S. 62) mit Phloroglucin keine Reaktion auf Pentose, jedoch mit Mohlisch-Reagenz den violetten Ring.

Die Hälfte des Filtrates wurde mit 59 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und zur Furfuroldestillation verwendet. Die einzelnen Destillate betrugen je 30 ccm, das achte der Destillate gab mit Anilinacetatpapier keine Reaktion mehr. Die Pentosen wurden nach Tollens bestimmt.

Insgesamt wurde erhalten: 0,0246 g Phloroglucid = 0,030 g Pentose = ca. 0,13 % Pentose, während bei der Autolyse ca. 0,85 % gefunden worden waren (s. S. 63). Die Natur der Pentose ist nicht bestimmt worden.

Man darf also wohl vermuten, daß die vorhandenen pentosehaltigen Komplexe bei der Autolyse gespalten werden, und daß diese Spaltung höchstwahrscheinlich die Pentoside betrifft, da im Pflanzenreiche Pentosane spaltende Fermente unbekannt sind.

2. Qualitative Untersuchungen.

Im nachstehenden beschreibe ich nun die Untersuchungen auf einzelne Bestandteile der Maiskeime. Wie aus der quantitativen Untersuchung hervorging, enthalten die von mir untersuchten Embryonen auffallend wenig nichteiweißartiger Stickstoffverbindungen, und die Darstellung dieser Substanzen war im vorliegenden Falle mit erheblichen Schwierigkeiten verknüpft.

A. Voruntersuchung des Fettes.

a) Unverseifbares.

Es wurden 50 g Ätherextrakt des Materials A in 200 ccm absolutem Alkohol gelöst, hierauf mit einer Lösung von 8 g Natrium in 250 ccm absolutem Alkohol verseift, zur Trockne eingedunstet und fein zerrieben.

Zur Gewinnung von event. vorhandenem Phytosterin wurde das erhaltene Pulver im Soxhlet-Apparat 6 Stunden mit wasserfreiem Äther extrahiert, der Ätherextrakt eingedunstet

und mit kochendem Alkohol aufgenommen. Beim Abkühlen entstand eine amorphe Ausscheidung, wahrscheinlich verhinderten Spuren von Glyzerin und Seifen eine Kristallisation. Daher wurde die alkoholische Lösung in Wasser gegossen, die entstandene Fällung abfiltriert und aus kochendem absoluten Alkohol umkristallisiert. Es resultierten reinweiße, glänzende, schmale Blättchen vom Schmelzpunkt 135—136°.

Eine Probe davon, gelöst in Chloroform, gab mit Schwefelsäure (spez. Gew. 1,47) die Hessesche Reaktion; eine zweite, in Chloroform gelöste Probe wurde mit 3 Tropfen Essigsäureanhydrid, hierauf mit 5 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt, gab rosa Färbung, welche allmählich in dunkelrotviolett überging.

Aus den angegebenen Versuchen und dem konstatierten Schmelzpunkt darf geschlossen werden, daß die erhaltenen Kristalle Sitosterin sind, was auch noch aus den auf S. 34 angeführten Untersuchungen der Benzoylverbindung bestätigt wird

b) Fettsäuren.

Der Rückstand von der Ätherextraktion wurde in kochendem Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Kochsalz ausgesalzen.

Das erhaltene klare Öl der Fettsäuren wurde im Scheidetrichter mit Wasser ausgewaschen, wobei sich nach einiger Zeit die höheren Fettsäuren kristallinisch ausschieden.

B. Untersuchung des Rohfettes.

a) Unverseifbares.

1000 g Ätherextrakt des Materials A wurden im großen Rundkolben mit $^1/_2$ l Alkohol am Rückfluß aufgekocht und dann eine Mischung von 1 l Alkohol mit 320 g NaOH, gelöst in möglichst wenig Wasser, zugefügt, wobei eine heftige Reaktion eintrat. Nach 6stündigem Kochen der entstandenen Seifen am Rückfluß, wurde der Alkohol mit überhitztem Wasserdampf vertrieben. Die anfangs übergehenden Dämpfe rochen stark nach Pyridin und Trimethylamin; sie wurden in verdünnter Schwefelsäure aufgefangen.

Nach möglichst vollständigem Vertreiben des Alkohols wurden die verbliebenen Seifen (ca. 2620 g) in 4 flache Schalen verteilt und je 80 ccm konzentrierte Salzsäure und 80 ccm Wasser sowie je 190 g Kochsalz zugefügt, wobei folgende Rechnung zugrunde gelegt war:

Das Molekulargewicht der Ölsäure ist 288, im Rohfett sind

außer Ölsäure noch niedere Fettsäuren enthalten, daher Molekulargewicht rund mit 250 angenommen; 1 kg des Rohfettes entspricht also 4 Mol. Fettsäuren; diese brauchen zum Verseifen 4 Mol. = 160 g NaOH. Von den zur Verseifung verwendeten 320 g NaOH verblieben noch mindestens 160 g = 4 Mol., zu deren Neutralisation 320 ccm konzentrierter Salzsäure nötig sind; bei dieser Neutralisation wurden 4 Mol. = 240 g Kochsalz gebildet, dessen Menge mit den zugefügten 760 g ca. 1 kg betrug (nach Ritter soll zirka das $1^1/_2$fache Gewicht an Kochsalz genommen werden). Unter ständigem Rühren wurde nun das Wasser vertrieben, anfänglich auf dem Wasserbad, zum Schluß im Trockenschrank bei 95°.

Die Seifen wurden in 2 Portionen mit Äther je 15—20 Stunden extrahiert, die hellgelbe ätherische Lösung im Scheidetrichter von noch vorhandenem Wasser getrennt. Nach dem Abdestillieren des Äthers verblieb eine schaumig aufgeblasene dunkelgelbe, kristallinische Masse. Ein Teil derselben wurde in wenig Alkohol gelöst, die Lösung in Wasser gegossen, wobei jedoch eine milchähnliche, nicht filtrierbare Emulsion resultierte. Diese wurde ausgeäthert und nach Vereinigung mit dem Ganzen im Kohlensäurestrom von Äther und Wasser befreit, der Rückstand nochmals mit wasserfreiem Äther aufgenommen, die ätherische Lösung zur Entfernung von anhaftenden Seifen filtriert und nach dem Vertreiben des Äthers gewogen, Ausbeute 19,43 g = = ca. 1,95% Unverseifbares im Rohfett.

Einige weitere Versuche zur Reinigung des Phytosterins durch Auflösen in Alkohol und Ausfällen in destilliertem Wasser fielen wiederum erfolglos aus. Die opaleszierende wäßrige Lösung reagierte schwach sauer. Anscheinend waren noch Spuren von Fettsäuren vorhanden, daher wurde zur Trennung von diesen das „Unverseifbare“ in ca. 500 ccm absolutem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Natronlauge erwärmt. Die Lösung färbte sich dabei dunkelrotbraun, es fiel ein weißer Niederschlag anorganischer Natur (löslich in Wasser, weder Na_2CO_3 noch Cl nachweisbar) sowie ein gelber, fettiger Satz (löslich in Wasser) aus, wovon abfiltriert wurde. Der nach dem Abdestillieren des Alkohols verbliebene rotbraune Rückstand war flüssig bei Wasserbadtemperatur, erstarrte beim Abkühlen. Er wurde mit Äther extrahiert, die hellgelbe ätherische Lösung, vom Äther befreit, gab 9,34 g Rohphytosterin. (Es waren zu verschiedenen Versuchen ca. 8 g des oben erwähnten „Unverseifbaren“ verwendet worden.)

Dieses Rohphytosterin wurde in wenig warmem absolutem Alkohol gelöst, ein Teil der Lösung, wieder in destilliertes Wasser

gegossen, gab wiederum milchige Trübung, die jedoch in konzentrierter Kochsalzlösung zusammenballte und dann filtriert werden konnte. Beim Waschen mit 1 %iger und stärkerer NaCl-Lösung blieb das Filtrat klar, bei 0,1 %iger Kochsalzlösung haftete jedoch der Niederschlag zäh auf dem Filter, und das Filtrat ging trüb durch.

Der gewaschene Niederschlag wurde mit Äther aufgenommen, die filtrierte Lösung gab nach Verdunsten des Äthers Kristallnadeln, welche in wenig heißem Alkohol gelöst wurden; beim Abkühlen fielen Kristallblättchen aus, welche abgesaugt und mit kaltem absolutem Alkohol gewaschen wurden. Ausbeute 0,70 g. (Das Filtrat gab beim Verdampfen des Alkohols noch 0,26 g.)

Der Rest der Alkohollösung gab beim Abkühlen 3,45 g hellgelber Kristalle (I), die bei 135° (unkorr.) schmolzen. Beim Eindunsten des Alkoholfiltrates resultierten noch 0,92 g Kristalle (II), von welchen abfiltriert wurde. Das warme Filtrat wurde tropfenweise bis zur beginnenden Trübung mit Wasser versetzt, der gelbliche Niederschlag, am nächsten Morgen abgesaugt, gab 0,34 g (III).

Die 3,45 g (I) wurden mit den 0,70 g vereinigt, in 30 ccm siedendem absolutem Alkohol gelöst, die hellgelbe Lösung gab nach Abkühlen weiße Kristalle, welche abgesaugt, mit absolutem Alkohol gewaschen, auf Tonplatte abgepreßt 2,68 g reinen Präparates gaben. Schmelzp. 136° (korr.).

Hiervon wurden 2,48 g mit 4,2 g Benzoylchlorid auf dem Ölbad bei 160° 4 Minuten erhitzt (die Lösung bezw. Reaktion war schon bei 110—120° eingetreten), dann wurde langsam abgekühlt, wobei die Schmelze zu einer grünlichbraunen Masse erstarrte.

Das überschüssige Benzoylchlorid (ca. 3,3 g) wurde durch Kochen mit Wasser zu Benzoesäure (ca. 2,9 g) hydrolysiert, welche durch wiederholtes Auskochen mit Wasser und Filtrieren entfernt wurde. Es verblieb ein hellgelber, grobkörniger Rückstand, welcher mit wenig absolutem Alkohol aufgekocht, nach dem Erkalten filtriert und mit Alkohol gewaschen, dann aus Äther umkristallisiert wurde. Schmelzp. 144,5° korr. Ausbeute 0,96 g. Der Schmelzpunkt des Sitosterylbenzoats ist 145,5°.[1])

Die Mutterlauge gab noch 0,67 g unreines Benzoylpräparat. Schmelzp. 142° korr.

Es liegt also Sitosterin vor (vgl. S. 16).

---

[1]) Burian, Monatshefte f. Chem. 18. 556 (1897); Ritter, Z. f. physiol. Chem. 34. 471 (1902).

b) Fettsäuren im Rohfett.

Eine quantitative Trennung der einzelnen Fettsäuren wurde nicht ausgeführt. Um jedoch einen ungefähren Anhaltspunkt über die Anwesenheit von niederen Fettsäuren zu erhalten, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen:

Die Hälfte der nach der Extraktion mit Äther verbliebenen Natronseifen (entsprechend 500 g Fett) wurde in ca. 8 l Wasser von 70° gelöst und die Fettsäuren mit Schwefelsäure in Freiheit gesetzt.

Die wäßrige Lösung wurde von den überstehenden festen Fettsäuren abgelassen und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen und mit wasserfreiem Na_2SO_4 entwässert; sie gab nach dem Vertreiben des Äthers 14,48 g niedere wasser- und ätherlösliche Fettsäuren = ca. 2,90 %. Die Untersuchung des Waschwassers sowie der mit Äther ausgeschüttelten wäßrigen Lösung ist weiter unten beschrieben.

Die festen Fettsäuren wurden in Äther gelöst, zuerst mit konzentrierter Sodalösung schwach alkalisch gemacht, hierauf mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuert und im Scheidetrichter mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser frei von Schwefelsäure und von Salzsäure ablief. Das Waschwasser wurde mit dem oben erwähnten vereinigt.

Die ätherische Lösung gab nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat und Vertreiben des Äthers

397,66 g höhere Fettsäuren = 79,55 %.

Die vereinigten Waschwasser wurden filtriert und mit überhitztem Wasserdampf die flüchtigen Fettsäuren übergetrieben. Das Destillat wurde mit 22 ccm $\frac{n}{5}$ Barytwasser neutralisiert, eingeengt und das Barium mit Schwefelsäure entfernt. Beim Verestern der verbliebenen Fettsäuren mit Äthylalkohol trat Ananasgeruch auf; daher wurde die geringe Menge als Buttersäure in Rechnung gestellt, woraus sich

0,38 g = 0,08 % Buttersäure

berechnet.

Die oben zuerst erwähnte wäßrige Lösung von ca. 10 l, welche mittels Äther von „niederen Fettsäuren“ ausgeschüttelt worden war, hatte hellgelbe, etwas grünliche Färbung. Sie wurde mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, stark eingeengt, nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure von den ausgeschiedenen Salzen abfiltriert und aus dem Filtrat die flüchtigen Fettsäuren mit Wasserdampf übergetrieben. Das Destillat gab

mit Silbernitrat keine Fällung, ein Zeichen, daß keine Salzsäure (aus dem Kochsalz) vorhanden war. Es verbrauchte zur Neutralisation gegen Phenolphtalein 100 ccm $\frac{n}{5}$ Barytwasser, was auf Essigsäure berechnet 1,2 g = ca. 0,24 % ergibt.

Eine Probe dieses Destillates reduzierte ammoniakalische Silbernitratlösung, deutete auf Anwesenheit von Ameisensäure, welche jedoch infolge Zersetzung der ungesättigten Säuren entstanden sein dürfte.

Aus den Untersuchungen des Rohfettes resultiert nun:

Sitosterin	1,94 %
Höhere Fettsäuren	79,55 %
Niedere „	2,90 %

mit Wasserdampf flüchtige Säuren:

Buttersäure.	0,08 %
Essigsäure	0,24 %
Summa:	84,71 %

C. Phosphatidgewinnung.

Die Darstellung von Phosphatid aus dem Alkoholextrakt des vorher mit Äther extrahierten Materials A gelang nicht. Erst nach wiederholten vergeblichen Versuchen gelang es, aus Material B ein Phosphatid zu isolieren, welches auch auf seine Spaltungsprodukte untersucht werden konnte.

Es wurden ca. $5^1/_2$ kg Embryonen B gemahlen und ca. 14 Tage im Perkolator mit Äther durch Diffusion extrahiert, der Rückstand zerrieben und mit Äther so lange gewaschen, bis der Extrakt eine schwache Phosphorreaktion zu geben begann. Es wurde dadurch verhindert, daß die Phosphatide in den Äther eingingen; eine Abscheidung der Phosphatide aus sehr fettreichen Lösungen ist fast unmöglich (vgl. S. 24).

Der an der Luft getrocknete Rückstand wurde nun zweimal mit 95 %igem Alkohol ausgekocht und abgepreßt. Die alkoholische Lösung, auf dem Wasserbad eingeengt und im Exsikkator über H_2SO_4 stehen gelassen, gab nach zwei Wochen keine Kristallisation von event. vorhandener Raffinose oder Rohrzucker. Der alkoholische Extrakt wurde nun einigemal mit Äther verrührt, bis die ätherische Lösung farblos war, wozu ca. 4 l Äther verwendet wurden.

Die ätherische Lösung wurde in kleinen Portionen mit ca. 2 l Wasser, dem 1 ccm konzentrierter Salzsäure zugesetzt war, vorsichtig durch langsames Schwenken ausgeschüttelt; es ent-

stand dabei keine Emulsion. Nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat wurde die ätherische Lösung auf dem Wasserbade vom Äther befreit, der erhaltene Syrup in wenig kaltem Äther gelöst und in viel auf 20° abgekühltes Aceton gegossen, wobei eine Fällung entstand, von welcher dekantiert und filtriert wurde. Die Fällung wurde nochmals in Äther gelöst und mit Aceton gefällt. Die so erhaltene Fällung löste sich nur zum Teil in Petroläther (Schmelzp. 30—50°).

Der Verdampfungsrückstand von der Petrolätherlösung löste sich wiederum nur teilweise in Äther. Die ätherische Lösung gab nach dem Verjagen des Äthers 5,1 g eines Produktes mit 2,53% P und 2,41% Zucker (berechnet als Glukose):

0,1870 g Substanz, verbrannt mit Salpeter-Sodamischung, Lösung gefällt nach Woy mit Ammonmolybdat, hierauf nach Schmitz mit Magnesiamixtur gab 0,0170 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,53% P.

Die Substanz gab nach einstündiger Hydrolyse nur Spuren von Reduktion der Fehlingschen Lösung. 3,310 g gaben nach fünfstündigem Kochen mit 5%iger Schwefelsäure 0,0138 g CuO = 0,0080 g oder 2,41% Zucker (berechnet als Glukose).

Die Petrolätherlösung wurde wieder in stark mit Eis gekühltes Aceton gegossen, wobei eine Fällung entstand, die getrocknet 36,2 g = ca. 0,66% des Materials B ausmacht. Dieses Phosphatid enthielt 2,87% P und 3,91% N.

0,9168 g gaben 0,0924 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,81% P
0,9026 g gaben 0,0950 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,93% P.
Mittel 2,87% P.

1,0124 g gaben nach Kjeldahl verbrannt 0,03775 g = 3,73% N
0,5525 g gaben 0,02262 g N = 4,09% N.
Mittel 3,91% N.

Das so erhaltene Phosphatid wurde nach dem von G. Trier[1]) angegebenen Verfahren auf Colamin (Aminoäthylalkohol) untersucht:

28,2 g wurden durch Kochen mit 300 ccm 2½%iger Schwefelsäure hydrolysiert, nach dem Abkühlen von den Fettsäuren abfiltriert, diese in Äther gelöst und die Ätherlösung wiederholt mit Wasser ausgeschüttelt, dem etwas H_2SO_4 beigefügt war. Filtrat und Waschwasser wurden auf dem Wasserbade eingeengt, vereinigt, mit reinem Baryt alkalisch gemacht und von den Bariumsalzen befreit. Das eingeengte Filtrat wurde von der kleinen Menge ausgeschiedener Bariumsalze abfiltriert und die Lösung mit Bleiessig versetzt, solange noch ein Niederschlag auftrat,

[1]) Z. f. physiol. Chem. 78 (1912) S. 496.

welcher abfiltriert und ausgewaschen wurde. Das Filtrat wurde mittels H_2S entbleit, die Lösung zur Trockne eingedunstet, der Rückstand durch wiederholtes Eindunsten mit Alkohol und HCl von der Essigsäure, hierauf im Vakuum über Natronkalk von überschüssiger HCl befreit.

Die verbliebenen Salze wurden mit absolutem Alkohol extrahiert, das Filtrat des alkoholischen Extraktes eingedunstet, der Rückstand abermals extrahiert und die filtrierte alkoholische Lösung mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt. Der Quecksilberniederschlag wurde aus Wasser umkristallisiert, mit H_2S zerlegt und das Cholin als Platinsalz identifiziert:

0,2769 g enthielten 0,0874 g = 31,56 % Pt,

für $(C_5H_{14}ONCl)_2PtCl_4$ berechnet sich 31,68 % Pt.

Das Filtrat von der Quecksilberfällung wurde vom Alkohol befreit, gab braunen Rückstand, welcher in heißem Wasser schwer löslich war, wobei ein kleiner schwarzer Rückstand verblieb. Die Lösung wurde mittels H_2S von Hg befreit, das Filtrat einigemal mit Wasser vorsichtig eingedunstet (zur Entfernung von HCl), der Rückstand hierauf getrocknet und mit Alkohol aufgenommen, wobei geringer, flockiger Niederschlag verblieb, von welchem abfiltriert wurde. Die alkoholische Lösung gab mit alkoholischer Platinchloridlösung einen geringen Niederschlag, welcher abfiltriert wurde. Das Filtrat wurde mit H_2S von Pt befreit, vorsichtig eingedunstet, gab beim Stehen über H_2SO_4 nach dem Impfen mit salzsaurem Colamin keine Ausscheidung. Der Sirup wurde daher mit Salzsäure (spez. Gew. 1,1) und konzentrierter Goldchloridlösung versetzt, nach längerem Stehen bildete sich eine kristallinische Ausscheidung und anscheinend etwas reduziertes Gold. Es wurde daher von der Ausscheidung abfiltriert, das Filtrat mittels H_2S vom Gold befreit, eingeengt zum Sirup, durch wiederholtes vorsichtiges Eindunsten mit Wasser die Salzsäure entfernt, mit Alkohol aufgenommen, zum Sirup eingedunstet, mit einem Kristall von Colaminchlorhydrat geimpft und im Exsikkator über H_2SO_4 stehen gelassen, nach 14 Tagen keine Kristallausscheidung.

Die Lösung gab mit Phosphorwolframsäure weiße, mit Phosphormolybdänsäure gelbe, käsige Ausscheidung, Kalium-Wismutjodid rotorange, Neßlers Reagens weiße Trübung, Natriumpikrat ölige, Pikrolonsäure braune Flocken, Fehlingsche Lösung negativ.

Die mittels Goldchlorid erhaltene Kristallmasse (s. o.) wurde mit heißem Wasser behandelt, vom Gold abfiltriert, mit etwas Salzsäure und Goldchlorid versetzt, gab beim Abkühlen eine

kleine Menge braunen Niederschlags, von welchem abfiltriert wurde; das Filtrat wurde eingeengt, mit etwas Salzsäure versetzt, gab nach dem Stehen im Exsikkator über Schwefelsäure dunkelorange, zusammenhängende Kristalle, welche bei 157° corr. sintern (unter schwachem Aufschäumen) und bei 184° (corr.) schmelzen.

0,1422 g verloren beim Erhitzen auf 100° 0,0013 g = 0,42 % H_2O,
0,1409 g getrocknetes Goldsalz gaben 0,0691 g Au und 0,2004 g AgCl = 49,05 % Au und 35,15 % Cl,
berechnet für Colaminchloraurat $C_2H_8ONAuCl_4$ 49,17 % Au und 35,36 % Cl.

Somit ist das Vorhandensein von Colamin im Phosphatid von Maisembryonen erwiesen.

D. Untersuchung auf Phytin.

2,5 kg des lufttrockenen, mit Alkohol und Äther extrahierten Materials A wurden mit 16 l kaltem Wasser angerührt, 5 l heißes Wasser zugefügt und diese Mischung, deren Temperatur 32° betrug, 6 Stunden unter häufigem Umrühren stehen gelassen. Nach dem Abpressen auf der Handpresse wurde der schwach sauer reagierende wäßrige Extrakt auf Phytin untersucht. Ein Teil der Flüssigkeit wurde mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, aufgekocht und der entstandene Niederschlag aufs Filter gebracht. Er war löslich in ganz verdünnter Essigsäure, die Lösung koagulierte beim Erhitzen, wurde aber beim Abkühlen wieder klar: ein charakteristisches Verhalten des Phytins.

Eine Lösung des Niederschlages in Salpetersäure gab auf Zusatz von Ammonmolybdat keine gelbe, sondern eine weiße, gallertartige Fällung.

Eine auf Ton getrocknete und hierauf im Platintiegel verbrannte Probe gab auf Zusatz von konzentrierter Salpetersäure und Ammonmolybdat gelbe Fällung, wodurch Phosphorsäure nachgewiesen war.

Um das „Phytin“ in größerer Menge zu gewinnen, wurde der ganze wäßrige Extrakt aufgekocht, mit NaOH schwach alkalisch gemacht, nach Abkühlen und Absitzen dekantiert und der Niederschlag aufs Filter gebracht.

Der weiße, schleimige, schlecht filtrierende Niederschlag wurde behufs Reinigung in Salzsäure gelöst, filtriert, das Filtrat mit Ammoniak neutralisiert und 20 Tropfen verdünnter Chlorkalziumlösung zugefügt.

Die aufgetretene Fällung wurde auf dem Filter mit destilliertem Wasser gut gewaschen und in einer Schale mit 500 ccm Alkohol

verrieben, um ein Trocknen der Substanz zu befördern. Nach dem Absaugen des Alkohols wurde nochmals mit absolutem Alkohol verrieben, dieser wieder abgesaugt und der Rückstand im Trockenschrank einen Tag getrocknet, wobei die Temperatur im Laufe des Tages allmählich bis auf 80° gesteigert wurde. Das feinzerriebene Pulver wurde dann noch einige Tage im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute betrug 15,4 g = ca. 0,25 %. Es ist eine weiße, amorphe, kreidige Masse, welche sich in verdünnter Essigsäure löst und sich beim Erwärmen der Lösung wieder ausscheidet.

Untersuchung des mit Wasser extrahierten Materials (s. S. 39).

Der auf der Handpresse erhaltene Rückstand des mit Wasser extrahierten Materials wurde behufs Untersuchung auf event. noch vorhandenes Phytin mit 10 l Wasser, welchem 50 ccm konzentrierte Salzsäure beigefügt waren, behandelt und nach 2 Tagen abgepreßt; der verbliebene Rückstand, wie weiter unten ausgeführt wird, auf alkalilösliche Eiweißkörper verarbeitet (s. S. 45).

Die Flüssigkeit wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht, etwas Kalziumchloridlösung beigefügt, der hierbei entstandene Niederschlag aufs Filter gebracht und infolge der geringen Ausbeute ohne vorherige Reinigung nach gründlichem Waschen mit Wasser und Alkohol getrocknet. Die Ausbeute betrug nur 3,3 g = ca. 0,06 % unreines Phytin. Das Filtrat hiervon diente zur Untersuchung auf Amide usw. (s. S. 41).

Die Spaltung des Phytins wurde nach der Vorschrift von Posternak zweimal ausgeführt, da der erste Versuch nur sehr wenig Inosit ergeben hatte.

Es wurden 5,1 g des reinen Phytins mit 20 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 Volumen konzentrierte Schwefelsäure, 2 Volumina Wasser) im Einschlußrohr 3 Stunden bei 158—162° erhitzt, das gelbe Zersetzungsprodukt vom Ungelösten abfiltriert, das Filtrat in der Hitze mittels Baryt von der Schwefelsäure und Phosphorsäure befreit.

Eine Probe des rosa gefärbten Barytniederschlages gab mit Ammonmolybdat in salpetersaurer Lösung die Phosphorsäurereaktion.

Das Filtrat von der Barytfällung gab die Scheerersche Inositreaktion: Eine Probe wurde mit einigen Tropfen konzentrierter Salpetersäure zur Trockne eingedunstet und der verbliebene weiße Rückstand mit einigen Tropfen Chlorkalziumlösung erhitzt, wobei intensive Rotfärbung auftrat.

Das Filtrat wurde nun auf ein kleines Volumen eingeengt, die im Exsikkator ausgeschiedenen bräunlichen Kristalle aus siedendem 70%igem Alkohol zweimal umkristallisiert, wobei nur wenig gelbliche Kristalle erhalten wurden, welche an der Luft verwitterten und auf Grund dieses Verhaltens und der Scherrerschen Reaktion als Inosit anzusprechen sind.

Die Schmelzpunktbestimmung gab kein befriedigendes Resultat; die Substanz bräunte sich bei etwa 204° und schmolz unscharf bei ca. 230—240°.

Die Ausbeute war bei weitem keine quantitative wie Posternak behauptet.[1]) Winterstein hat zuerst den Inosit aus dem Magnesiumsalz der Inositphosphorsäure durch Spalten mit Salzsäure in guter Ausbeute erhalten (vgl. S. 14).

E. Untersuchung auf Amide und andere stickstoffhaltige Verbindungen.

Der von der Untersuchung auf Phytin (s. S. 40) verbliebene wäßrige Extrakt aus 2,5 kg des entfetteten und mit Alkohol extrahierten Materials A wurde auf verschiedene stickstoffhaltige Verbindungen verarbeitet, wobei speziell auf Amide gefahndet wurde.

Vorerst wurde das Filtrat vom Phytin (s. S. 39), ca. 15 l, mit Essigsäure angesäuert und die wasserlöslichen Eiweißkörper mit Gerbsäure gefällt (s. S. 44). Da diese Fällung nicht zu filtrieren war, benutzte ich den Kunstgriff, etwas Bleiessig zuzufügen.

Nach einigen Stunden wurde die über der Fällung stehende klare, hellgelbe Flüssigkeit abgehebert, der Niederschlag auf dem Filter ausgewaschen, Filtrat und Waschwasser (ca. 17 l) zur Entfernung überschüssiger Gerbsäure mit Bleiessig versetzt, nach dem Absitzen von der Bleifällung getrennt und letztere mit Wasser ausgewaschen.

Die mit dem Waschwasser vereinigte Flüssigkeit (ca. 20 l) wurde mit Merkurinitrat versetzt, bis eine abfiltrierte Probe damit keine Fällung mehr gab. In der entstandenen Fällung waren Amide, Allantoin und Alloxurbasen, zum kleinen Teil auch Arginin und Tyrosin zu erwarten, während Cholin, Betain und der größere Teil der Hexonbasen nach den bisherigen Erfahrungen im Filtrat verbleiben mußten.

Die Fällung wurde am nächsten Tage, nach dem Abhebern der überstehenden Flüssigkeit, aufs Filter gebracht und gut aus-

[1]) M. S. Posternak, Compt. rend. 37. S. 202.

gewaschen (s. unter b). Das Filtrat und Waschwasser (ca. 20 l) wurden mittels Schwefelsäure entbleit, hierauf mit Baryt schwach alkalisch gemacht, da unter Umständen durch Quecksilbersalze in schwach alkalischer Lösung Aminosäuren (Tyrosin und Leucin) gefällt werden (s. unter a).

Nach dem Absitzen des entstandenen Niederschlages wurde die abfiltrierte Flüssigkeit mit Sublimatlösung versetzt. (Da durch die vorher angewandten Fällungsmittel basische Stoffe nur unvollständig bezw. [wie z. B. Lysin] gar nicht gefällt werden, benutzte ich zur Fällung dieser Stoffe Quecksilberchlorid, ein Verfahren, welches sich im hiesigen Laboratorium in einigen Fällen bewährt hatte.)

Es entstand eine Gelbfärbung und Trübung, nach Zusatz von Baryt fiel in der alkalisch gemachten Flüssigkeit ein gelber Niederschlag aus, welcher bald aufs Filter gebracht werden mußte, da er sich zu schwärzen begann.

Das Filtrat wurde nicht weiter untersucht. Der gründlich gewaschene Niederschlag wurde zwischen Fließpapier abgepreßt, mit Wasser verrieben und mittels Schwefelwasserstoff zersetzt.

Das vom ausgeschiedenen Quecksilbersulfid befreite Filtrat wurde auf dem Wasserbad vorsichtig eingeengt, hierauf im Exsikkator über Schwefelsäure stehen gelassen. Nach einigen Tagen verblieb ein zäher, brauner Sirup, welcher mit siedendem Methylalkohol extrahiert wurde, da Lysinchlorid hierin löslich ist; der dabei verbliebene bimsteinähnliche Rückstand wurde zerrieben und nochmals mit Methylalkohol extrahiert. Aus dem methylalkoholischen Extrakt schieden sich erst nach längerer Zeit prismatische Kristalle aus, deren geringe Menge für eine Analyse jedoch nicht ausreichte. Es waren somit in dieser Fraktion wenig Basen (bezw. wenig Lysin).

a) Aminosäuren (s. unter E) (Tyrosin und Leucinfraktion).

Die Fällung, welche mit Merkurinitrat aus der durch Baryt schwach alkalisch gemachten Lösung erhalten worden war, wurde mit destilliertem Wasser gründlich gewaschen, zwischen Fließpapier abgepreßt, mit destilliertem Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das vom Quecksilbersulfid befreite Filtrat wurde nach Neutralisation mit Ammonkarbonat im Wasserbad vorsichtig eingedunstet; im Exsikkator über Schwefelsäure entstand eine braune sirupöse Masse.

b) Amide.

Der durch Merkurinitrat in schwach saurer Lösung (s. unter E) entstandene Niederschlag wurde mit destilliertem Wasser aus-

gewaschen, zwischen Fließpapier abgepreßt, mittels Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung vom Quecksilbersulfid befreit. Das erhaltene, mit Ammonkarbonat neutralisierte Filtrat wurde auf dem Wasserbade vorsichtig eingedunstet; es ergab im Exsikkator über Schwefelsäure eine dunkelbraune Flüssigkeit, aus welcher sich auch nach langem Stehen keine Kristalle des erwarteten Asparagins ausschieden.

Zur Reinigung der „Amidfraktion" von event. vorhandenem Arginin wurde die mit etwas destilliertem Wasser verdünnte Flüssigkeit mit Schwefelsäure stark sauer gemacht und mit Phosphorwolframsäure versetzt; vom entstandenen Niederschlag nach mehreren Stunden abgesaugt und dieser auf organische Basen untersucht (s. unter c).

Das erhaltene Filtrat wurde mit Baryt neutralisiert, die ausgefallenen Baryumsalze entfernt, die blaue Flüssigkeit mit Merkurinitrat versetzt und die entstandene Fällung mit Schwefelwasserstoff zersetzt.

Das vom Merkurisulfid befreite blaue Filtrat wurde auf dem Wasserbade mit Tierkohle digeriert, von dieser befreit und wie vorher unter Neutralisation mit Ammonkarbonat eingeengt.

Auch nach diesem Reinigungsverfahren konnten keine Kristalle erhalten werden, so daß behauptet werden darf, daß die untersuchten Maiskeime weder Asparagin noch Glutamin in nachweisbarer Menge enthalten.

c) Organische Basen (Arginin).

Der bei der Reinigung der Amide erhaltene Phosphorwolframsäureniederschlag (s. unter b) wurde nach gründlichem Auswaschen mittels 5 %iger Schwefelsäure mit Baryt verrieben, bis eine abfiltrierte Probe beim Einleiten von Kohlensäure eine Fällung gab, mittels Rührer und Windflügel das Ammoniak vertrieben, hierauf durch Einleiten von Kohlensäure das überschüssige Barium gefällt, von den Bariumsalzen abfiltriert, das Filtrat auf dem Wasserbade erwärmt, vom Bariumkarbonat befreit, mit Salpetersäure neutralisiert und vorsichtig eingeengt. Der hierbei erhaltene Sirup wurde in Wasser gelöst und nach der Methode von Kossel u. Kutscher[1]) verarbeitet: es wurde Silbernitrat zugesetzt, bis eine Probe mit Baryt eine gelbbraune Fällung von Silberoxyd gab (s. S. 54); die in der schwach sauren Lösung entstandene geringe Ausscheidung der Alloxurbasen wurde entfernt, das Filtrat mit so viel Baryt versetzt, bis eine abfiltrierte

[1]) Z. f. physiol. Chem. 31. 165 (1900).

Probe der Flüssigkeit mit ammoniakalischem Silbernitrat keine weiße Fällung mehr gab als Zeichen, daß alles event. vorhandene Histidin gefällt war.

Das von der Histidinfraktion befreite Filtrat gab auf Zusatz von überschüssigem Baryt eine Fällung der Argininfraktion, welche gewaschen, abgepreßt und mit Wasser angerieben wurde. Der Niederschlag wurde mit Wasser und etwas Schwefelsäure angerieben und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, vom ausgeschiedenen Silbersulfid und Bariumsulfat abgesaugt, das Filtrat zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffs erwärmt, die überschüssige Schwefelsäure mit Baryt gefällt, Kohlensäure eingeleitet, erwärmt und von den ausgefällten Bariumsalzen abfiltriert. Die mit Salpetersäure neutralisierte Flüssigkeit wurde nun vorsichtig eingeengt und gab im Exsikkator einen braunen fadenziehenden Sirup; trotz Impfens wurden keine Kristalle von Argininnitrat erhalten. Daher wurde versucht, durch Kochen mit Kupferhydroxyd das gutkristallisierende Argininkupfernitrat zu erhalten. Die vom überschüssigen Kupferhydroxyd abfiltrierte dunkelblaue Flüssigkeit wurde dann eingeengt und gab im Exsikkator eine dunkelblaue, amorphe Masse.

d) Wasserlösliche Eiweißkörper.

Die S. 41 erwähnte Gerbsäurefällung wurde nach gründlichem Auswaschen mit Baryt zersetzt, vom ausgeschiedenen Bariumtannat getrennt, das Filtrat mit Kohlensäure gesättigt, erwärmt, vom Bariumkarbonat abfiltriert und vorsichtig eingeengt. Im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet verblieb eine amorphe braungelbe Ausscheidung, welche mit verschiedenen Reagentien auf Eiweiß geprüft wurde.

1. Reaktion von Hopkins:

Glyoxalsäure und konzentrierte Schwefelsäure gab violette Färbung, Beweis für Vorhandensein der Tryptophangruppe.

2. Millonsches Reagenz.

Lösung von Merkurinitrat, welche etwas salpetrige Säure enthält, gab besonders beim Erwärmen intensive Fällung, die sich in der Kälte allmählich rot färbt. Diese Reaktion tritt bei allen Körpern mit Phenolgruppen auf und gilt bei Eiweißkörpern als Beweis für die Anwesenheit der Tyrosingruppe.

3. Phosphorwolframsäure gab starke Fällung; sie ist Fällungsmittel für Albumosen, Peptone, fast alle Alkaloide, Betaine, Alloxurbasen, Hexonbasen und Ammoniak.

4. Biuretreaktion war positiv:

Konzentrierte Kalilauge und einige Tropfen stark verdünnter Kupfersulfatlösung gaben violettrote Färbung.

5. Brückesches Reagens.

$HgJ_2 \cdot 2KJ$ gibt Fällung, welche mit Salzsäure stärker wird. Es ist dies ein allgemeines Reagens auf Eiweißkörper (auch für Alkaloide).

Es wurden 4,6 g = ca. 0,08 % nicht koagulierbarer wasserlöslicher Eiweißsubstanz erhalten, die man zu den Albumosen zu rechnen hat, da die Biuretreaktion nicht blau wie bei Pentosen, sondern mehr rot ausfiel.

e) Alkalilösliche Eiweißkörper.

Ungefähr der dritte Teil des mit Wasser extrahierten auf S. 40 erwähnten Rückstandes, entsprechend ca. 800 g Ausgangsmaterial A, wurde mit 12 l Wasser angerührt, mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht, nach dem Absitzen dekantiert und koliert, der Rückstand mit ca. 3 l Wasser gewaschen und aus den erhaltenen Flüssigkeiten die alkalilöslichen Eiweißkörper mit Essigsäure zur Ausfällung gebracht. Die Fällung wurde behufs Entfernung anorganischer Salze dreimal mit je ca. 3 l Wasser angerührt, auf dem Filter mit destilliertem Wasser, dann mit Alkohol gewaschen und 2 Wochen unter Alkohol stehen gelassen. Der von diesem Alkohol abgesaugte Niederschlag wurde mit absolutem Alkohol und mit Äther gewaschen, davon wiederum abgesaugt und im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure getrocknet, dabei öfter umgerührt und zerrieben.

Ausbeute 55,4 g = ca. 2,9 % alkalilösliche Eiweißkörper. Material B gab nach dreimaliger Extraktion ca. 4,8 % (s. S. 46).

F. Eiweißgewinnung aus Material B.

Ungereinigte Keime des Materials B wurden gemahlen und hierauf in großen Perkolatoren mittels Petroläther entfettet, vom Petroläther befreit. Das so erhaltene lufttrockene entfettete Material enthielt 7,01 % Feuchtigkeit:

12,856 g gaben bei 105° im Wasserstoffstrom 11,955 g.

Zur Darstellung von Eiweiß wurden 1500 g lufttrockenes Material = 1394 g Trockensubstanz mit 0,2 %iger Natronlauge digeriert, abgepreßt, mit Natronlauge derselben Konzentration zweimal gewaschen. Das Filtrat mit verdünnter Essigsäure angesäuert, die erhaltene Fällung erst unter Alkohol, hierauf unter Äther vom Wasser befreit, über Schwefelsäure getrocknet und pulverisiert. Ausbeute 181 g lufttrockenes Eiweiß = 162,4 g Trockensubstanz = 11,65 % Eiweiß im enfetteten bezw. ca. 4,8 % im Material B.

3,4948 g lufttrockenes Eiweiß 6 Stunden bis auf 110° erwärmt, verlor 0,3595 g = 10,28 % Feuchtigkeit.

Die mit Petroläther entfetteten Keime gaben also 11,65 % alkalilösliches Eiweiß, welches wohl mit anorganischen Salzen verunreinigt war, jedoch keine Kohlenhydrate enthielt (s. S. 53) und einen Stickstoffgehalt von nur 10,50 % aufwies.

1. 0,3782 g lufttrockenes Eiweiß = 0,3393 g Trockensubstanz nach Kjeldahl verbrannt, gaben 0,035 78 g = 10,54 % Stickstoff.

2. 0,4298 g = 0,3856 g Trockensubstanz enthielten 0,040 33 g = 10,46 % N.

Mittel: 10,50 % Gesamtstickstoff.

G. Untersuchung des alkalilöslichen Eiweiß.

Um einigen Aufschluß über die Bausteine des gewonnenen Eiweiß zu erhalten, wurde es nach bekannten Methoden gespalten. Die Bestimmung der Hexonbasen geschah nach Methoden von Kossel u. Weiß,[1]) bezw. es wurden die Mengen der Basen aus dem Stickstoffgehalt berechnet, die anderen Aminosäuren wurden nach der Estermethode von Fischer isoliert. Da in unserem Laboratorium keine Einrichtung zur Erzeugung vom Vakuum des Kathodenlichtes besteht, so wurde von einer quantitativen Bestimmung der Aminosäuren abgesehen.

a) Isolierung der Aminosäuren.

100,0 g lufttrockenes Eiweiß = 93 g Trockensubstanz wurden in 300 ccm konzentrierter Salzsäure (spez. Gew. 1,19) suspendiert und auf dem Wasserbade mit Rückflußkühler 24 Stunden erwärmt, wobei jedoch ein großer Teil ungelöst blieb. Hierauf wurde 7 Stunden auf dem Sandbade gekocht, nach dem Abkühlen vom Ungelösten abgesaugt und dieses wiederholt ausgekocht. Der schwarze Rückstand wog 26,3 g = ca. 28 % (vgl. S. 53).

Das Filtrat und Waschwasser wurde auf ca. 300 ccm eingeengt, mit Tierkohle aufgekocht, mit gasförmiger Salzsäure in der Kälte gesättigt, mit einem Kriställchen Glutaminsäurechlorhydrat geimpft und für einige Tage in den Eisschrank gestellt, es trat jedoch keine Kristallisation ein, auch nicht nach weiterem Einengen auf 100 ccm und gleicher Behandlung wie vorher. Daher wurde zum Sirup eingedunstet, der Sirup mit 300 ccm absolutem Alkohol übergossen und die etwas abgekühlte Flüssig-

[1]) Abderhalten, Handb. der biochemischen Arbeitsmethode Bd. 2 S. 499.

keit durch Einleiten von gasförmiger Chlorwasserstoffsäure verestert. Die Lösung der Ester wurde unter vermindertem Druck eingeengt, es schieden sich jedoch keine Kristalle von Glykokollesterchlorhydrat aus, auch nachdem mit einem Kriställchen davon geimpft worden war. Daher wurde wiederum zum Sirup eingedunstet, die Veresterung in gleicher Weise wie vorher wiederholt, die Lösung auf 250 ccm gebracht und aus den Esterchlorhydraten die Ester nach der Methode von Abderhalden und Rostocki[1]) in Freiheit gesetzt, wozu 18,7 g Na nötig waren, welche in Alkohol gelöst zugefügt wurden.

1. 5 ccm Lösung verbrauchten 33,6 ccm N/2$AgNO_3$
2. 5 ccm „ „ 33,4 ccm „

Mittel: 33,5 ccm = 0,6204 g HCl.

Die Silbernitratlösung war mit N/2 HCl, die im Liter 22,4 g HCl enthielt, eingestellt worden, wobei Kaliumchromat als Indikator diente.

10 ccm dieser Salzsäure = 0,224 g HCl verbrauchten 12,1 ccm Silbernitratlösung.

1 ccm N/2$AgNO_3$ entspricht also 0,018 52 g HCl.

240 ccm Lösung enthielten demnach 29,78 g HCl und verlangten 18,7 g Na.

Die Ester wurden hierauf einer fraktionierten Destillation unterworfen.

Esterdestillation.

Der anfänglich bei 24—36 mm Druck und bis 42° Wasserbadtemperatur übergehende Alkohol wurde in verdünnter Salzsäure aufgefangen, wobei fast nur Ammonchlorid erhalten wurde (1,9 g gereinigt). Es wurden 5 verschiedene Fraktionen isoliert:

Fraktion	Druck	Temperaturen des Bades	Temperaturen der Dämpfe	Ausbeute
I	12—14 mm	bis 75°	bis 40°	2,34 g
II	12 mm	„ 92°	„ 61°	3,40 g
III	13 mm	„ 98,5°	„ 78°	7,30 g
IV	16—19 mm	„ 122°	„ 102°	14,34 g
V	18—26 mm	„ 140°	90—119°	3,6 g

Der Destillationsrückstand wurde mit Alkohol und etwas verdünnter Salzsäure ausgekocht, wobei 6,8 g der Esterchlorhydra e resultierten. Beim Wechseln der Vorlage zwischen der IV. und V. Fraktion sowie auch bei der Destillation der V. Fraktion schieden sich im Ansatzrohr des Fraktionierkolbens Kristalle

[1]) Z. f. physiol. Chem. 46. 125 (1905).

aus. Die V. Fraktion gab nur wenig flüssigen Ester, bei der Destillation derselben schwankte der Druck stark, was auf eine beginnende Zersetzung hindeutete. Daher wurde die Destillation vorzeitig unterbrochen und diese Fraktion nicht weiter untersucht.

Die drei ersten Esterfraktionen wurden sofort durch Kochen mit der zehnfachen Menge Wasser verseift, wobei leider durch einen Unfall die III. Fraktion in Verlust geriet. Die Lösungen wurden unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, wobei die I. Fraktion 1,0 g, die II. Fraktion 2,6 g Aminosäuren ergab. Die IV. Fraktion wurde behufs Gewinnung von Phenylalanin in 80 ccm Wasser gelöst und diese Lösung dreimal mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung dreimal mit Wasser gewaschen. Die mit diesem Waschwasser vereinigte wäßrige Lösung der IV. Fraktion wurde durch Kochen mit Baryt verseift. Sie gab beim Stehen keine Ausscheidung von asparaginsaurem Barium, daher wurde das Barium durch Schwefelsäure gefällt und das Filtrat vom Bariumsulfat unter vermindertem Druck eingedampft, es gab 6,4 g Aminosäuren.

Alle Fraktionen wurden einige Mal mit Alkohol ausgekocht, um event. vorhandenes Prolin abzutrennen. Beim Abkühlen der alkoholischen Lösung schieden sich Kristalle aus, das Filtrat von denselben wurde unter vermindertem Druck eingedunstet, der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und diese Operation einige Male wiederholt. Der verbliebene Rückstand wurde mit Kupferhydroxyd gekocht, vom ungelösten Kupferhydroxyd abfiltriert, das Filtrat unter vermindertem Druck eingedunstet und mit absolutem Alkohol ausgekocht, wobei fast alles in Lösung ging. Das Kupfersalz des l-Prolins ist löslich in absolutem Alkohol, das des racemischen Prolins unlöslich. Beim Einengen der Lösung schieden sich Kristalle aus, welche einen Kupfergehalt von 21,61 % Cu ergaben und folglich als l-Prolinkupfer anzusprechen sind:

0,2056 g Substanz enthielten 0,0566 g CuO.

Für Prolinkupfer $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu$ berechnet sich 21,79 % Cu.

Phenylalanin. Von der ätherischen Lösung (s. oben) wurde der Äther abdestilliert, der Rückstand durch Verdampfen mit konzentrierter Salzsäure verseift, in Wasser gelöst und durch Ammoniak das Phenylalanin in Freiheit gesetzt, abfiltriert, gewaschen und umkristallisiert, bis kein Ammonsalz mehr vorhanden war.

Die Kristalle schmolzen bei 265° unter Zersetzung. Beim Erhitzen derselben mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure trat schwacher Geruch nach Phenylacetaldehyd auf. Die Lösung

gab mit Phosphorwolframsäure eine ölige Ausscheidung, die in der Kälte kristallin, beim Erhitzen wieder ölig wurde.

Untersuchung der einzelnen Fraktionen.

Die Prüfung der ersten Fraktion auf Glykokoll, welches ein charakteristisches schwer lösliches Pikrat gibt, fiel negativ aus. Es wurden nun die vom Prolin und Phenylalanin befreiten Fraktionen einer fraktionierten Kristallisation unterworfen und die einzelnen Kristallfraktionen untersucht. Alle dabei angeführten Schmelzpunkte sind korrigierte.

I. Esterfraktion.

1. Kristallfraktion 0,011 g sublimiert bei 230—260°
2. „ 0,014 g „ „ 270°
3. „ 0,436 g bräunt sich „ 230°,

schmilzt unter Aufschäumen und teilweise sublimierend bei 245 bis 250°. Die beiden ersten Kristallfraktionen wurden nicht weiter untersucht, die dritte Fraktion gab ein Kupfersalz, welches 27,07 % Cu enthielt.

0,2400 g Kupfersalz gaben 0,0814 g CuO.

Für Alaninkupfer $(C_3H_6NO_2)_2Cu$ berechnet sich 26,52 % Cu. Es dürfte also Alanin vorliegen, welches vielleicht durch etwas Glykokoll verunreinigt war.

IV. Esterfraktion.

1. Kristallfraktion 0,198 g Schmelzp. 274° in geschlossenem Rohr
2. „ 0,247 g „ 255–258° „ „ „
3. „ 0,288 g
4. „ 0,450 g
5. „ 0,175 g „ 268° unter Aufschäumen
6. „ braun gefärbter Rückstand.

1. Kristallfraktion erwies sich als optisch inaktiv. Sie wurde mit Kupferhydroxyd gekocht und gab ein schwer lösliches Salz in blaßblauen Blättchen, welches 19,26 % Cu enthielt:

0,0228 g gaben 0,0055 g CuO.

Für Leucinkupfer $(C_6H_{12}NO_2)_2$ Cu berechnet sich 19,64 % Cu.

2. Kristallfraktion war hellgelb, gab mit wenig Kupferhydroxyd vorerst keine Ausscheidung. Erst beim Kochen mit mehr Kupferhydroxyd bildeten sich an der Oberfläche blaßblaue Schuppen, welche mechanisch abgetrennt und aus heißem Wasser umkristallisiert wurden. Sie waren unlöslich in Methylalkohol (Isoleucinkupfer ist darin löslich), die Menge reichte zu einer Analyse nicht aus.

3. Kristallfraktion war etwas dunkler gelb, sie wurde aus Wasser umkristallisiert und gab kugelige, nierenförmige Aggregate, deren Schmelzp. 266° im geschlossenen Rohr war. Sie gab ein Kupfersalz wie die 2. Fraktion.

4. Kristallfraktion. Diese bestand aus reinweißen Kristallen von anscheinend einheitlicher Zusammensetzung. Sie wurde in wenig heißem Wasser gelöst, die Lösung reagierte sauer und wurde mit aufgeschlämmtem Kupferhydroxyd versetzt, solange sich dieses noch löste. Die dunkelblaue Lösung gab beim Kochen spontane Ausscheidung eines dicken Kristallbreies. Das ausgefallene Kupfersalz löste sich nur äußerst schwer in viel kochendem Wasser. Die heiße Lösung aus den letzten Anteilen des Kristallbreies war ganz blaßblau, beim Abkühlen kristallisierte noch eine kleine Menge aus, welche, abgesaugt und getrocknet, eine hellblaue verfilzte Masse mit starkem Seidenglanz gab. Das aus Wasser umkristallisierte Kupfersalz zersetzte sich bei 230° unter starkem Aufschäumen. Es bestand aus hellblauen, zu Büscheln und Garben vereinigten mikroskopisch feinen Nädelchen. Dieses Kupfersalz war trotz seiner geringen Löslichkeit äußerst hygroskopisch, es gab im Vakuum über Schwefelsäure nur einen Teil des Wassers ab, enthielt auch bei 140° getrocknet noch ca. $^1/_2$ Mol. Wasser und war erst bei 150° wasserfrei.

Eine Mikroanalyse nach Professor Pregl ergab folgende Resultate:

Elementaranalyse.

1. Ausgeführt mit Substanz, die bei Athmosphärendruck über Schwefelsäure getrocknet war.

5,236 mg gaben 0,276 ccm N (712 mm 18,5°) = 5,75 % N
7,285 mg gaben 2,82 mg H_2O = 4,33 % H
5,33 „ CO_2 = 19,96 % C
2,389 „ CuO = 26,20 % Cu

Berechnet für $C_4H_5O_4NCu + 2{,}7\ H_2O$	Gefunden
C = 19,73	19,96
H = 4,31	4,33
N = 5,76	5,75
Cu = 26,13	26,20

2. 8,567 mg feuchter Substanz verloren beim Trocknen auf 140° 2,076 mg = 24,33 %. Die so erhaltenen 6,491 mg ergaben

1,745 mg H_2O = 3,01 % H
5,67 „ CO_2 = 23,82 % C
2,545 „ CuO = 31,33 % Cu

Für $C_4H_5NO_4Cu + {}^1/_2\ H_2O$ berechnet sich 23,57 % C, 2,97 % H und 31,22 % Cu.

3. 4,69 mg der bei 150° getrockneten Substanz gaben

gefunden		berechnet für $C_4H_5NO_4Cu$
1,01 mg H_2O =	2,41 % H	2,59 % H
4,25 „ CO_2 =	24,72 % C	24,66 % C
1,888 mg CuO =	32,16 % Cu	32,66 % Cu

Beim Glühen der Substanz im Schiffchen trat etwas Aufschäumen auf, wodurch sich der zu niedrig gefundene Wert für Kupfer erklären dürfte.

Wasserbestimmung.

Um die maximale Wassersättigung zu ermitteln, wurde die Substanz erst 30 Minuten in feuchter Atmosphäre unter einer Glasglocke stehen gelassen.

1. 6,65 mg der mit Wasserdampf gesättigten Substanz verloren beim Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure in 20 Minuten 1,470 mg = 22,11 % Wasser.

2. 6,65 mg derselben Substanz verloren beim Trocknen auf gleiche Weise in einer Stunde 1,574 mg = 23,67 % Wasser.

3. 6,65 mg verloren beim Trocknen auf 150° bis zur Gewichtskonstanz 1,960 mg = 29,47 %.

Eine Berechnung ergibt, daß das Salz in feuchter Atmosphäre 4,52 Mol. Wasser enthält und daß es im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet nach 20 Minuten noch 1,18 Mol., nach 1 Stunde nur noch 0,89 Mol. Wasser enthielt. Beim Stehen über Schwefelsäure unter Atmosphärendruck behielt das Salz ca. 3 Mol., beim Trocknen auf 140° ca. ${}^1/_2$ Mol. Wasser.

Die Analysen und auch die Wasserbestimmung stimmen auf asparaginsaures Kupfer. Ritthausen[1]) gibt an, daß Kupferasparagat erst bei 150—156° sein Wasser verliert und daß bei 160° Zersetzung eintritt. Der Wassergehalt betrage 29,09 %. Dessaignes[2]) fand, beim Trocknen auf 160° 31,78 % Wasser = 5 Mol. Curtius u. Koch[3]) geben an, daß es nach dem Trocknen über Schwefelsäure 3 Mol. Wasser enthält. Nach Hofmeister[4]) sei es leicht löslich in verdünnter kochender Essigsäure. Abderhalden u. Kautzsch[5]) beschrieben ein

[1]) Journ. f. prakt. Chem. 107 S. 229 (1869).
[2]) Gmelin, Handb. Supl. II S. 897.
[3]) Journ. f. prakt. Chem. 146 S. 486 (1888).
[4]) Ann. 189 S. 20 (1877).
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 64 S. 459 (1910).

asparaginsaures Kupfer, welches von den darin enthaltenen 4,5 Mol. H_2O im Vakuumexsikkator sehr langsam 3 Mol., bei 110—120° ein weiteres Mol., den Rest von 0,5 Mol. erst bei 150° abgab.

Diese Kristallfraktion bestand also wahrscheinlich aus Asparaginsäure, doch will ich bemerken, daß sowohl der Ester, als auch die freie Säure und das Kupfersalz einige Abweichungen von den in der Literatur beschriebenen Derivaten der Asparaginsäure aufwiesen.

Der Ester, in welchem die Aminosäure sich vorfand, destillierte unter 16—19 mm Druck bei 102° über, während derjenige der Asparaginsäure nach E. Fischer[1]) unter 11 mm Druck einen Siedepunkt von 126,5° hat.

Nach Hofmeister (a. a. O.) löst sich Kupferasparagat in 234 Teilen kochendem und in 2870 Teilen kaltem Wasser, während das von mir erhaltene Salz eine viel geringere Löslichkeitsdifferenz aufwies. Es löste sich viel schwerer in heißem Wasser und fiel aus der erkalteten Lösung erst nach dem Verdunsten eines Teiles des Wassers und nach längerem Stehen aus. Es war auch entgegen dem Befund desselben Forschers in kochender verdünnter Essigsäure kaum löslich.

Die freie Säure war in Wasser nicht sehr schwer löslich. Curtius u. Koch (a. a. O.) erhielten aus einem Salz, welches sie als Kupferasparagat ansprachen, durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff eine Aminosäure. Diese schien sich im Wasser viel leichter zu lösen als die aus Asparagin dargestellte Asparaginsäure, vielleicht hatten sie dieselbe Substanz in Händen, die ich hier bei der Hydrolyse des alkalilöslichen Eiweiß aus Mais erhalten habe.

Aus der 3. und 5. Kristallfraktion konnte kein Kupfersalz, welches dem obigen glich, gewonnen werden. Durch einen Zufall war also diese Aminosäure nur in die eine Kristallfraktion gelangt, welche auch nur geringe Spuren eines anderen Kupfersalzes gab.

b) Bestimmung der Basen im Eiweiß.

Die Hydrolyse und Bestimmung der Basen wurde genau nach der Vorschrift von F. Weiß[2]) ausgeführt.

49,71 g Eiweiß = 44,60 g Trockensubstanz wurden mit 60%iger Schwefelsäure digeriert, hierauf mit Wasser auf 30% verdünnt, durch 6stündiges Kochen am Rückflußkühler hydroly-

[1]) Berichte 34 S. 453 (1901).
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 52 (1907) S. 108.

siert. Nach dem Abkühlen mit Wasser verdünnt und filtriert, wobei 6,60 g = 14,78 % Rückstand verblieb. Bei der Hydrolyse mit Salzsäure betrug der Rückstand ca. 28 % (vergl. S. 46). Das Filtrat wurde auf 1000 ccm aufgefüllt.

Verteilung des Stickstoffes in der Hydrolysenflüssigkeit.

1. Gesamtstickstoff.

1. 10 ccm = 0,4460 g Trockensubstanz gaben 0,04438 g = 9,95 % N.
2. 10 ccm gaben 0,04489 g = 10,07 % N.

Mittel 10,01 % Stickstoff.

Es war demnach im Rückstand der Hydrolyse 0,49 % Stickstoff verblieben, da das Eiweiß 10,50 % N enthält (s. S. 46).

5 ccm der Lösung wurden mit Natronlauge neutralisiert und mit Fehlingscher Lösung geprüft, wobei keine Reduktion stattfand.

2. Huminstickstoff I.

Der Rest von 975 ccm der Hydrolysenflüssigkeit, entsprechend 43,485 g Substanz, wurde zum Sieden erhitzt, mit Baryt bis zu schwachsaurer Reaktion versetzt, vom ausgeschiedenen Bariumsulfat und mitgerissenen „Humin" abgesaugt, diese Fällung ausgekocht und gut ausgewaschen. Das Filtrat auf 1002 ccm gebracht.

1. 10 ccm = 0,4340 g gaben 0,04068 g = 9,37 % N
2. 10 ccm = 0,4340 g gaben 0,04111 g = 9,47 % N

Mittel: 9,42 % N.

Differenz 10,01 — 9,42 = 0,59 % „Huminstickstoff I".

3. Ammoniakstickstoff.

1. 50 ccm = 2,1700 g Substanz mit Baryt neutralisiert, 1 g aufgeschlämmtes Bariumkarbonat zugefügt und das Ammoniak mit Wasserdampf abdestilliert. Das Destillat wurde in N/10 H_2SO_4 aufgefangen, verbrauchte 8,17 ccm = 0,01152 g = 0,53 % N.
2. 50 ccm wie bei 1. behandelt verbrauchte 7,67 ccm N/10 H_2SO_4 = 0,1081 g = 0,49 % N.

Mittel 0,51 % Ammoniakstickstoff.

4. Huminstickstoff II.

Die zur Ammoniakdestillation verwendete Flüssigkeit wurde mit derjenigen, welche von der Stickstoffbestimmung des Huminstickstoff I verblieben war, vereinigt und die vereinigten Flüssig-

keiten, welche demnach 43,485 — 0,868 = 42,617 g Eiweiß entsprachen, mit Baryt neutralisiert, 4 g Bariumkarbonat zugesetzt und 2 Stunden zur Vertreibung des Ammoniaks erhitzt. Vom Bariumkarbonat und Bariumsulfat wurde abfiltriert, der geringe Niederschlag mit heißem Wasser gut ausgewaschen, mit 10 ccm 50 % iger reiner Schwefelsäure angesäuert, eingeengt, vom Bariumsulfat befreit und auf 1000 ccm gebracht. In aliquoten Teilen wurde der Stickstoff bestimmt. Nach Weiß (a. a. O.) sollte mit dem Barytniederschlag der „Huminstickstoff II" ausfallen, das Filtrat davon also um diesen und den vertriebenen Ammoniakstickstoff ärmer an Stickstoff sein, was jedoch hier nicht der Fall war.

1. 10 ccm = 0,4262 g nach Kjeldahl verbrannt, gaben 0,03844 g = 9,02 % N.
2. 10 ccm gaben 0,03834 g = 9,00 % N.

Mittel: 9,01 % N.

Die Differenz beträgt nur 0,41 %, also etwas weniger, als dem Ammoniakstickstoff entspricht. Es scheint also beim Kochen mit Bariumkarbonat nicht alles Ammoniak entwichen zu sein.

Fällung von Histidin und Arginin als Silberverbindungen.

Der Rest der Flüssigkeit entsprechend 41,765 g Eiweiß wurde erwärmt, anfangs mit festem gepulvertem Silbersulfat, hierauf mit heißgesättigter Lösung desselben versetzt, bis eine Probe des Filtrates mit Barytwasser einen dunklen Niederschlag gab, als Zeichen, daß Silber im Überschuß vorhanden ist. Es wurden insgesamt 33,26 g Silbersulfat dazu verbraucht.

Hierauf wurde die Flüssigkeit abgekühlt, mit festem Baryt im Überschuß versetzt, wobei Arginin und Histidin gefällt werden, der Niederschlag abgesaugt und mit barythaltigem Wasser gewaschen. Die Untersuchung des Filtrats auf Lysin s. S. 57.

5. Die Bestimmung des Stickstoffs in Arginin und Histidin.

Der Baryt-Silberniederschlag wurde mit Schwefelsäure angesäuert, durch Schwefelwasserstoff zersetzt, aufgekocht und vom Silbersulfid und Bariumsulfat abfiltriert, der Niederschlag ausgekocht und ausgewaschen, das Filtrat auf 500 ccm gebracht und in aliquoten Teilen der Stickstoff bestimmt.

1. 10 ccm = 0,8353 g nach Kjeldahl verbrannt, gaben 0,02460 g = 2,95 % N.
2. 10 ccm gaben 0,02396 g = 2,87 % N.

Mittel: 2,91 % N als Arginin + Histidin.

Trennung des Histidins vom Arginin.

Die verbliebene Flüssigkeit (480 ccm) entsprechend 40,094 g Eiweiß wurde mit Baryt genau neutralisiert, mit Bariumnitratlösung ausgefällt, das Filtrat davon auf 300 ccm gebracht mit Salpetersäure angesäuert und mit konzentrierter Silbernitratlösung in geringem Überschuß versetzt (12,24 g $AgNO_3$). Hierauf wurde mit Baryt genau neutralisiert, mit aufgeschlämmtem Bariumkarbonat versetzt und erwärmt, wobei das Histidin gefällt wird und Arginin in der Lösung verbleibt (s. S. 56).

Histidinfraktion.

Der nach dem Erkalten abgesaugte und durch Waschen mit schwach barythaltigem Wasser bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaktion gereinigte Niederschlag wurde mit schwefelsäurehaltigem Wasser verrieben, mittels Schwefelwasserstoff zersetzt, aufgekocht, vom Silbersulfid und Bariumsulfat abfiltriert, der Niederschlag wiederholt ausgekocht und bis zum Verschwinden der P.-Wolframsäurereaktion gewaschen. Das Filtrat und Waschwasser wurden eingeengt und auf 250 ccm gebracht. Die erhaltene hellbraune Flüssigkeit hatte einen geringen Bodensatz, welcher in Salpetersäure löslich war.

6. Histidinstickstoff.

1. 20 ccm = 3,2075 g gaben 0,02976 g = 0,93 % N
2. 20 ccm = 3,2075 g „ 0,02907 g = 0,91 % N.

Mittel: 0,92 % N als Histidin = 3,49 % Histidin.

Der verbliebene Rest der Flüssigkeit sollte nach der Berechnung ca. 1,17 g Histidin enthalten. Er wurde von der Schwefelsäure befreit, auf ca. 30 ccm eingeengt und mit gesättigter alkoholischer Lösung von Pikrolonsäure versetzt (1,17 g Histidin verlangt 1,99 g Pikrolonsäure; es wurde ein kleiner Überschuß, 2,12 g, zugefügt. Die anfangs entstehende Trübung löste sich bei weiterem Zusetzen der Pikrolonsäure). Das Reaktionsgemisch wurde der Kristallisation im Exsikkator überlassen; nach einigen Tagen bildete sich eine bräunlichgelbe schmutzige Kristallmasse, deren Menge 2,468 g betrug. Sie wurde aus Wasser umkristallisiert, wobei 3 Fraktionen erhalten wurden. Die Mutterlauge davon gab nach einer Woche noch eine Ausscheidung von feinen Nadeln, welche beim Filtrieren sich gallertartig zusammenballten. Von dem reinen Pikrolonat wurde beim Versuch einer Schmelzpunktsbestimmung folgendes gefunden:

Beginn des Sinterns bei 230° (korr.),
Schmelzen 232,5° (korr.),

Bräunen 235,5° (korr.),
Aufschäumen unter völligem Schwärzen bei 241° (korr.).

Nach P. Briegl[1]) und Steudel[2]) zersetzt sich l-Histidinpikrolonat bei raschem Erhitzen gegen 232°, während sich l-Histidindipikrolonat nach Brigl sowie Abderhalden und Einbeck[3]) bei 225° schwärzt und gegen 265° zersetzt.

Argininfraktion.

Das Filtrat von der Histidinfällung (s. S. 55) entsprechend 40,094 g Eiweiß wurde mit gepulvertem Baryt gesättigt, abgesaugt, der Niederschlag mit Barytwasser bis zum Verschwinden der Salpetersäurereaktion gewaschen, mit schwefelsäurehaltigem Wasser verrieben und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Nach Aufkochen wurde vom ausgeschiedenen Bariumsulfat und Silbersulfid abgesaugt, der Rückstand wiederholt ausgekocht, das Filtrat auf 500 ccm gebracht und darin der Stickstoff bestimmt.

7. Argininstickstoff.

1. 20 ccm = 1,6038 g gaben 0,02493 g = 1,57% N
2. 20 ccm = 1,6038 g gaben 0,02553 g = 1,59% N.

Mittel: 1,58% N als Arginin = 4,92% Arginin.

Der von dieser Stickstoffbestimmung verbliebene Rest wurde mit Baryt von der Schwefelsäure befreit, auf ca. 10 ccm eingeengt und mit der berechneten Menge (2,74 g) Pikrolonsäure gefällt. Die Ausbeute betrug 4,082 g Pikrolonat (statt 4,543 g berechnet).

Nach Umkristallisation aus heißem Wasser verblieben 3,122 g Argininpikrolonat mit einem Schmelzpunkt von 234° (korr.). Nach Koßel und Weiß[4]) schmilzt Argininpikrolonat bei 238°. Nach Rießer[5]) bei 248°.

Zur Kontrolle, ob beim Fällen des Argininsilbers mit Baryt basische Stickstoffsubstanzen in Lösung geblieben, wurde das Filtrat von der Argininfällung mit Schwefelsäure neutralisiert, vom ausgeschiedenen Bariumsulfat befreit, mit Schwefelsäure 5%ig gemacht und mit Phosphorwolframsäure versetzt, wobei ein geringer Niederschlag entstand. Er wurde nach Kjeldahl verbrannt und darin 0,023 g = 0,01% Stickstoff gefunden.

In Summa wurden also statt 2,91% (s. S. 54) nur

$$0{,}92 + 1{,}58 + 0{,}01 = 2{,}51\%\ \text{N}$$

wiedergefunden.

---

[1]) Z. f. physiol. Chem. 64. 339 (1910).
[2]) Z. f. physiol. Chem. 37. 219 (1903), 44. 157 (1905).
[3]) Z. f. physiol. Chem. 62. 331 (1909).
[4]) Z. f. physiol. Chem. 59. 492, 60. 311 (1909).
[5]) Z. f. physiol. Chem. 49. 232 (1906).

Lysinfraktion (s. S. 54).

Das oben erwähnte Filtrat von den Silberverbindungen des Histidins und Arginins entsprechend 41,765 g Eiweiß wurde von Barium und Silber befreit, der Niederschlag des Bariumsulfats und Silbersulfids ausgekocht, mit heißem Wasser gründlich gewaschen. Das Filtrat wurde auf 500 ccm gebracht und darin der Stickstoff bestimmt.

8. Lysinstickstoff und andere Aminosäuren.

1. 10 ccm = 0,8353 g gaben 0,04970 g = 5,97 % N
2. 10 ccm = 0,8353 g gaben 0,04945 g = 5,93 % N

Mittel: 5,95 % N.

Summa 5,95 + 2,91 = 8,86 % statt 9,01. Da die Auswaschungen der zu entfernenden Niederschläge stets sehr gründlich bis zum Ausbleiben der jedesmal möglichen Reaktionen vorgenommen worden sind, also ein Verlust durch unvollständige Erschöpfung der Niederschläge kaum anzunehmen ist, so scheint es, daß beim Sättigen mit Baryt Ammoniak entwichen ist, wodurch der Fehlbetrag von 0,15 % herrühren dürfte.

Die von der letzten Stickstoffbestimmung verbliebene Flüssigkeit entsprechend 40,094 g wurde mit Schwefelsäure 5 %ig gemacht, mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag nach 24 Stunden abgesaugt und mit 5 %iger Schwefelsäure gut gewaschen. Im Filtrat verblieben „nichtbasische Aminosäuren". Der Niederschlag wurde nach bekannter Vorschrift mit Baryt zersetzt, das Filtrat auf 100 ccm gebracht und in aliquoten Teilen der Stickstoff bestimmt.

9. Lysinstickstoff.

1. 10 ccm = 4,0094 g gaben 0,02640 g = 0,66 % N
2. 10 ccm = 4,0094 g gaben 0,02580 g = 0,64 % N

Mittel 0,65 % N als Lysin = 3,39 % Lysin.

Der von der Stickstoffbestimmung verbliebene Rest der Flüssigkeit entsprechend 32,075 g Eiweiß wurde eingeengt, mit 15 ccm alkoholischer Pikrinsäurelösung neutralisiert, das Pikrat nach zwei Tagen abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und aus heißem Wasser umkristallisiert. Die Mutterlaugen wurden nach Entfernung des Alkohols und der Pikrinsäure mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag zerlegt und wie vorher weiter behandelt. Diese Operation wurde wiederholt, bis mit Phosphorwolframsäure nur noch schwache Fällung auftrat. Insgesamt wurde statt der berechneten Menge von 2,786 g nur 1,762 g Lysinpikrat erhalten.

Die Analyse des Pikrates ergab für Stickstoff

1. 0,1202 g gaben bei 19° und 720 mm 20,7 ccm = 0,02262 g = 18,82 % N
2. 0,1377 g gaben 23,6 ccm = 0,02579 g = 18,74 % N

Mittel 18,78 % N.

Für Lysinpikrat $C_6H_{14}O_2N_2 \cdot C_6H_2(NO_2)_3OH$ berechnet sich 18,67 % N.

10. Aminosäurenstickstoff.

Das Filtrat und Waschwasser der Lysinfällung wurde von der Schwefelsäure und der Phosphorwolframsäure befreit, auf 1000 ccm gebracht und der Stickstoff darin bestimmt.

1. 20 ccm = 0,8019 g gaben 0,04025 g = 5,02 % N
2. 20 ccm = 0,8019 g gaben 0,03973 g = 4,96 % N

Mittel 4,99 % N nichtbasische Aminosäuren.

Das untersuchte alkalilösliche Eiweiß enthielt also 10,50 % Gesamtstickstoff, welcher sich wie folgt verteilt:

Hydrolysenrückstand	0,49 % N		
Huminstickstoff I	0,59 %		
Ammoniakstickstoff	0,51	= 0,62 %	Ammoniak
Histidinstickstoff	0,92	= 3,49 %	Histidin
Argininstickstoff	1,58	= 4,92 %	Arginin
Lysinstickstoff	0,65	= 3,39 %	Lysin
Aminosäuren-N	4,99 %.		

Osborne und Clapp hatten für ihr alkalilösliches Protein aus Maissamen mehr Arginin (7,06 %) und Ammoniak (2,12 %), dagegen weniger Lysin (2,93 %) und Histidin (3,00 %) gefunden (s. S. 18).

H. Autolysenversuche.

Aus den Embryonen konnten basische Produkte, wie solche sich in Weizenembryonen vorfinden, nicht isoliert werden, dagegen fand sich der größte Teil des Stickstoffs in Form von Eiweißkörpern vor. Es wurde daher untersucht, ob bei einer Autolyse sich basische Körper aus dem Eiweiß abspalten. Zur vorläufigen Orientierung wurden nur kleine Mengen autolysiert und die Autolysenflüssigkeit der Analyse unterworfen.

Autolyse mit Material A.

24,8 g Trockensubstanz wurden mit 150 ccm Leitungswasser, 2,8 g NaF und etwas Chloroform unter Xylol 16 Tage bei 37—40° stehen gelassen, hierauf wurde abgesaugt, der Rückstand wiederholt gewaschen, das etwas trübe Filtrat von Xylol und Chloro-

form befreit und auf 500 ccm aufgefüllt. Das Filtrat hatte starken Geruch nach Benzaldehyd.

a) Stickstoffbestimmung im wäßrigen Extrakt der Autolyse.

Gesamtstickstoff.

1. 50 ccm = 2,48 g Trockensubstanz nach Kjeldahl verbrannt gaben 0,00868 g = 0,35 % N.
2. 50 ccm gaben 0,00843 g = 0,34 % N.

Mittel: 0,345 % Gesamt-N.

Eiweiß-Stickstoff.

1. 50 ccm Lösung mit Kalialaun und Kupferhydroxyd versetzt, filtriert, Rückstand nach Kjeldahl verbrannt, gab 0,0006 g = 0,024 % N.
2. 50 ccm gaben 0,00112 g = 0,045 % N.

Mittel: 0,035 % N fällbar mit Kupferhydroxyd.

Das Filtrat von der Kupferhydroxydfällung wurde mit Bleiessig versetzt, der entstandene Niederschlag ausgewaschen und nach Kjeldahl verbrannt.

1. 50 ccm gaben 0,00138 g = 0,056 % N
2. 50 ccm gaben 0,00155 g = 0,062 % N.

Mittel: 0,059 % N fällbar mit Bleiessig.

Das Filtrat von der Bleiessigfällung wurde mit Schwefelsäure 5 %ig gemacht, vom Bleisulfat abfiltriert, mit Phosphorwolframsäure versetzt und der geringe entstandene Niederschlag nach 24 Stunden nach Kjeldahl verbrannt.

1. gab 0,00026 g = 0,011 % N
2. gab 0,00043 g = 0,017 % N.

Mittel: 0,014 % N fällbar durch Phosphorwolframs.

Resultat:

		vom gesamten wasserlösl. N
fällbar durch Kupferhydroxyd	0,035 % N	= 10,1 %
„ „ Bleiessig[1])	0,059	17,1 %
„ „ Phosphorwolframsäure	0,014	4,1 %
„ „ Rest	0,237 % N	68,7 %
wasserlöslicher Gesamt-N	0,344 %.	

[1]) Nach E. Schulze (Landwirtsch. Versuchsstation 79 S. 56 u. 58) werden von Bleiessig Polypeptide und Arginin gefällt.

Das mit Äther extrahierte Material A hatte ergeben (s. S. 28):

1. fällbar mit Phosphorwolframsäure 0,32 % N
2. Aminosäuren usw. 0,46 % N.

Dies gibt berechnet auf unextrahiertes Ausgangsmaterial A

1. 0,147 % N } während das der Autolyse } 1. 0,073 % N.
2. 0,211 % N } unterworfene Material ergab } 2. 0,237 % N.

Überblickt man diese Resultate, so ergibt sich, daß die untersuchten Embryonen keine eiweißspaltenden Fermente enthielten (vgl. auch S. 17 zit. Nr. 103).

b) Zuckerbestimmung im wäßrigen Extrakt der Autolyse.

Diese wurde nach der Methode von Bertrand ausgeführt. Man filtriert das durch Reduktion der Fehlingschen Lösung entstandene Kupferoxydul ab, löst es in Ferrisulfatlösung und titriert das gebildete Ferrosalz mittels Kaliumpermanganat.

1 ccm der verwendeten Kaliumpermanganatlösung entsprach dabei 9,834 mg Cu.

1. 25 ccm der Lösung (vgl. S. 59) = 1,24 g Substanz verbrauchten 5,60 ccm $KMnO_4$ = 55,1 mg Cu = 27,9 mg oder 2,25 % als Glukose berechnet.
2. 25 ccm Lösung wie oben behandelt braucht 5,8 ccm $KMnO_4$ = 57,0 mg Cu = 28,9 mg oder 2,33 % Glukose.

Mittel: 2,29 % als Glukose berechnet (event. Maltose enthaltend). Polysaccharide.

Je 25 ccm Lösung wurden mit 4 ccm konzentrierter Salzsäure gekocht, hierauf weiter wie oben behandelt.

1. verbrauchte 7,5 ccm $KMnO_4$ = 73,8 mg Cu = 38 mg oder 3,06 % Invertzucker.
2. verbrauchte 7,5 ccm $KMnO_4$ = 3,06 %.

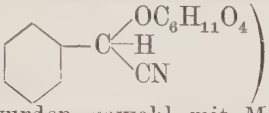
Mittel: 3,06 % Gesamtzucker,

folglich 3,06 — 2,29 = 0,77 % Polysaccharide (ber. als Glukose).

Da weder der alkoholische noch der wäßrige Extrakt der Maiskeime nennenswerte Mengen von Kohlenhydraten ergeben hatten (s. S. 30), so scheinen diese in Form von unlöslichen Verbindungen darin vorzukommen und erst durch ein vorhandenes Enzym, welches bei der Autolyse wirkte in wasserlösliche Form überzugehen.

c) Prüfung auf Glykoside.

Da sowohl bei der Untersuchung des Alkoholextraktes als auch bei einem der Autolysenversuche (s. S. 59) intensiver Geruch

nach Benzaldehyd aufgetreten war, so lag die Vermutung nahe, daß in den Embryonen des Mais ein Glykosid vorhanden sei (in den Gramineen Panicum und Serghum z. B. kommt das Glykosid Dhurrin vor ). Die diesbezüglichen Untersuchungen wurden sowohl mit Material A wie mit Material B vorgenommen, teils an unveränderten, teils an vorher entfetteten, und in einem Falle wurde das Material auch vorher einer Autolyse unterworfen. In den beiden ersten Versuchen wurden je 12—15 g des Materials A auf 70° erhitzt und mit den auf 70—75° erwärmten Lösungsmitteln einige Stunden digeriert, noch warm abgesaugt und gewaschen. Diese Operation diente zur Zerstörung eventuell vorhandener Fermente.[1]) Als Lösungsmittel wurde in einem Fall 95%iger Alkohol, im anderen Wasser verwendet. Der wäßrige Extrakt wurde mittels Bleiessig vom Eiweiß befreit, ein Teil des Filtrates von der Bleifällung mit Emulsin versetzt, gab jedoch auch nach längerem Stehen bei 47° keinen Geruch nach Benzaldehyd und auch keine Reaktion auf Blausäure.[2])

Andere Proben des Filtrates gaben nur sehr schwache Reduktion der Fehlingschen Lösung, das bleihaltige Filtrat gab auf Zusatz von Ammoniak keine Ausscheidung, woraus geschlossen werden kann, daß nur wenig Kohlenhydrate in Lösung gegangen waren.

In einem dritten Versuch wurden 50 g ausgelesene und von allen Beimengungen befreite Embryonen des Materials B mittels Äther von der Hauptmenge des Fettes befreit, hierauf gemahlen und mit 200 ccm Leitungswasser 5 Stunden bei 37—38° mazeriert und dann der Dampfdestillation unterworfen. Nach Versuchen von E. Kahn Abrest[3]) an Javaerbsen geht der größte Teil der in dem Glykosid derselben enthaltenen Blausäure schon bei der Destillation ohne Säure über. Ich konnte jedoch in meinem Destillat keine Blausäure nachweisen, auch nicht nach der Hydrolyse des Materials mit 10 ccm reiner Schwefelsäure. Das Destillat gab mit ammoniakalischem Silbernitrat nach mehrstündigem Stehen eine Ausscheidung von amorphem Silber und mit Phenylhydrazin und 50%iger Essigsäure nur eine geringe Trübung, die sich allmählich vermehrte und rot färbte. Die ausgeschiedene Fällung war kein Benzaldehydhydrazon.

---

[1]) van Rijn, Die Glykoside S. 8 (1900).
[2]) z. B. nach v. Hlasiwetz C. 1906 I. 1273.
[3]) C. 1906 I. 1274.

Ein dem dritten ähnlicher Versuch mit 100 g ungereinigten und nicht vorher entfetteten Embryonen des Materials B führte zu demselben Resultat. Es wurde versucht, das in etwas größerer Menge erhaltene Hydrazon durch Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmitteln zu reinigen, doch resultierten stets zerfließliche Kristalle, die keinen scharfen Schmelzpunkt ergaben.

d) Pentose bei der Autolyse.

In einem letzten Versuche wurden von den nicht ausgelesenen Embryonen B. 500 g = 474,8 g Trockensubstanz gemahlen und mit 1900 g Leitungswasser bei 37—38 ° der Autolyse überlassen, wobei am Anfang starke Gasentwicklung auftrat. Nach 2 Wochen wurde der Rückstand abgepreßt, mit Wasser gründlich gewaschen und vom Waschwasser abgepreßt. Das Filtrat der ersten Abpressung betrug 1000 ccm; es gab auch nach längerer Zeit keine Reaktion auf Blausäure,[1]) dagegen gab eine Probe davon eine intensive Reaktion auf Pentose (vgl. S. 31).

Die Hälfte des Filtrates wurde der Furfuroldestillation nach Tollens unterworfen, jedoch mit der kleinen Modifikation, daß am Anfang mit Dampf ohne Zugabe von Salzsäure destilliert wurde. Die Flüssigkeit schäumte beim Erwärmen schwach auf und trübte sich etwas.

Die ersten Destillate reagierten stark sauer; eine Probe derselben gab bei der Prüfung auf Milchsäure nach Fletscher[2]) negative Resultate, die Reaktion nach Mohlisch war schwach positiv. Der minimale ätherische Extrakt dieser Destillate gab keine Reaktion auf Benzaldehyd.

Bei der Zugabe der nötigen Menge Salzsäure (125 ccm konz. HCl) wurde die Flüssigkeit klar und färbte sich gelb. Es wurde nun nach der Vorschrift von Tollens destilliert, solange die Destillate noch Anilinacetatpapier rot färbten, und insgesamt 1000 ccm des Destillates aufgefangen. Der zehnte Teil derselben, entsprechend 23,74 g Trockensubstanz, wurde mit Phlorogluein und Salzsäure gefällt, das Phlorogluzid abgesaugt und getrocknet. Das Filtrat davon war weder gelb noch rötlich; auch färbte sich eine Probe des Destillates weder mit Alkohol und Schwefelsäure noch mit reiner Salzsäure gelb; hieraus kann nach Tollens geschlossen werden, daß im Destillat kein Methyl-

[1]) Isopurpurreaktion nach Hlasiwetz C 1906. I. 1273.
[2]) Journ. of Physiol. 35. 247 (1907).

furfurol und folglich in der Autolysenflüssigkeit keine Methylpentose vorhanden war.

Das Gewicht des getrockneten Phloroglucids betrug 0,0835 g = 0,04605 g, Furfurol = 0,0896 g oder 0,378 % Pentose. Um die Gesamtmenge der Pentose zu bestimmen, wurde auch der zwanzigste Teil des Waschwassers der Furfuroldestillation unterworfen und dabei erhalten:

0,1057 g Phloroglucid = 0,05755 g, Furfurol = 0,1120 g oder 0,473 % Pentose.

Die Autolysenflüssigkeit aus 23,74 g Trockensubstanz enthielt demnach 0,2016 g oder **0,85 % Pentose,** welche zum größten Teil wohl aus Pentosiden abgespalten sind (s. S. 31).

Die zweite Hälfte des Filtrates dieser letzten Autolyse sowie die Hälfte der Waschflüssigkeit wurde bei 35° und 40 mm Druck auf ca. 60 ccm eingedunstet, wobei ein geringer, schwach phosphorhaltiger Niederschlag entstand. Das Filtrat hiervon, welches stark sauer reagierte, gab beim Eingießen in das zehnfache Volumen 95 %igen Alkohol, eine zähe, fadenziehende, gelbliche Ausscheidung, die zu einem Klumpen zusammenballte und durch Verreiben mit absolutem Alkohol in ein fast weißes Pulver zerfiel. Nach dem Absaugen und Trocknen dieses Pulvers im Exsikkator über Schwefelsäure verblieben davon 26,0 g = ca. 11 % von der Trockensubstanz der Maisembryonen.

Das Pulver war sehr leicht löslich in Wasser und in verdünnter Schwefelsäure. Die wässerige Lösung gab keine Fällungen mit Essigsäure, Pikrinsäure und Eßbachschem Reagens. Mit Silbernitratlösung entstand eine schwache Trübung, welche in Ammoniak löslich war. Beim Erwärmen dieser Lösung entstand kein Silberspiegel.

Biuretreaktion schwach positiv, nach Stehen deutlich.
Reaktion von Hopins & Cole (auf Tryptophan) negativ.
Millons Reaktion (auf Tyrosin) negativ.
Mit Kupferhydroxyd nach Heintz gekocht (Prüfung auf Aminosäuren) gibt schwach grünliches Filtrat.
Mit Phosphorwolframsäure weiße kristalline Ausscheidung, größtenteils löslich im Überschuß des Reagens. (Aminosäuren? Polypeptide?)
Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung gibt intensive Rotfärbung (Histidin usw.).
Mohlischs Reagens sehr starker violetter Ring (Hexosen).
Fehlingsche Lösung wird erst nach dem Kochen der Substanz mit verdünnten Säuren reduziert (Polysaccharide).
Mit Jodlösung trat keine Färbung auf (keine Stärke).
Inositprüfung schwach positiv.

Die Fällung besteht also wohl aus einem Gemisch von Kohlenhydraten, Peptonen und Basen. Eine nähere Untersuchung steht noch bevor.

Das Filtrat von dieser Fällung gab folgende Reaktionen:
Mit Phosphorwolframsäure schwere bräunliche Fällung.
Pikrinsäure sowie Eßbachsches Reagens negativ.
Diazobenzolsulfosäure starke Rotfärbung.
Bleiessig und Ammoniak starke gelbe Fällung.
Prüfung auf Inosit negativ.
Fehlingsche Lösung wird reduziert.
Benzylphenylhydrazin gab ölige Ausscheidung, welche nicht kristallisierte.

Eine eingeengte Probe wurde auf Zusatz des gleichen Volumens konzentrierter Salzsäure gelblich gefärbt und beim Versetzen mit Phloroglucin rot.

I. Darstellung der organischen Basen aus Material A.

5,2 kg des entfetteten, mit Alkohol extrahierten Materials A wurden mit 32 l Wasser von 50—55° angerührt, unter öfterem Umrühren 6 Stunden extrahiert und ergaben, auf der Presse abgepreßt, 21 l Flüssigkeit.

Der Rückstand wurde noch 1 Stunde mit 22 l Wasser von 50° extrahiert und wieder ausgepreßt, wobei 22 l Flüssigkeit zurückgewonnen wurden. Aus den Flüssigkeiten wurden die wasserlöslichen Eiweißkörper mit Bleiessig ausgefällt (wobei event. auch organische Säuren ausfallen s. S. 68) und entfernt, hierauf das Blei durch Schwefelsäure entfernt und der Extrakt auf offener Flamme bis auf $6\frac{1}{2}$ l eingedampft.

Die eingeengte Flüssigkeit wurde nach dem Erkalten mit Schwefelsäure versetzt, bis deren Gehalt ca. 5 % betrug, und die organischen Basen durch Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Fällung setzte sich über Nacht ab, wurde von der überstehenden Lösung abgehebert und auf der Nutsche mit 5 %iger Schwefelsäure ausgewaschen.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde mit wieder negativem Resultat auf Asparagin untersucht (Ausfällen der neutralisierten Lösung mit Hg $(NO_3)_2$).

Der mit Phosphorwolframsäure erhaltene Niederschlag wurde mit Baryt zersetzt, das (durch Geruch stark wahrnehmbare) Ammoniak mittelst Rührwerk und Windflügel vertrieben, hierauf von den Bariumsalzen abfiltriert, Kohlensäure eingeleitet, erwärmt, vom Bariumkarbonat abfiltriert, das Filtrat mit Salpetersäure neutralisiert und auf dem Wasserbade eingeengt.

Die Trennung der Basen erfolgte nach der schon oben beschriebenen Methode von Kossel u. Kutscher (S. 43).

a) Alloxurbasen.

Die durch Silbernitrat entstandene Fällung wurde gewaschen, zwischen Fließpapier abgepreßt, mit Wasser verrieben, mit Salpetersäure schwach angesäuert, aufgekocht und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt.

Das vom Silbersulfid befreite Filtrat wurde erwärmt, um Schwefelwasserstoff zu vertreiben, die dabei entstandene schwache Fällung entfernt, die klare Lösung mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und bei kleiner Flamme auf dem Wasserbade eingeengt.

Im Exsikkator über Schwefelsäure zeigte sich nach einigen Tagen eine hellbraune, grobschuppige Ausscheidung in dem erhaltenen braunroten Syrup.

Der Syrup wurde mit Wasser in Lösung gebracht, die vom schuppigen Niederschlag befreite Lösung eingeengt, ergab im Exsikkator eine amorphe, dunkelbraune Masse.

b) Histidinfraktion.

Die Fällung des Histidinsilbers in durch Baryt schwach alkalisch gemachter Lösung wurde auf der Nutsche wiederholt mit Wasser ausgewaschen, zwischen Fließpapier abgepreßt, mit Wasser verrieben, Schwefelsäure zur Ausscheidung des Bariums zugesetzt und mittelst Schwefelwasserstoff zersetzt. Das vom Silbersulfid und Bariumsulfat abgesaugte Filtrat wurde etwas eingeengt, die überschüssige Schwefelsäure mit Baryt vorsichtig gefällt und vom Bariumsulfat befreit.

Eine eingeengte Probe des Filtrates wurde mit Salzsäure angesäuert, gab aber nach längerem Stehen keine Kristalle von Histidinchlorid.

Daher wurde eine Reinigung nach der Methode von Kossel u. Patten[1]) vorgenommen, welche darauf beruht, daß die Quecksilberverbindung des Histidins in $2\,^1/_2\,\%$iger Schwefelsäure unlöslich ist, während diejenigen des Arginins (und Asparagins) darin löslich sind.[2])

Die Lösung wurde mit Schwefelsäure versetzt, bis deren Gehalt $2\,^1/_2\,\%$ betrug, hierauf Quecksilbersulfat zugefügt und

---

[1]) Z. f. physiol. Chem. 38. 41 (1905).

[2]) Nach Hopkins and Cole (Journ. of Physiol. 27. 418 (1901), 29. 451 [1905]) wird Tryptophan durch Lösung von $HgSO_4$ in $5\,\%$iger H_2SO_4 gefällt!

2 Tage stehen gelassen, da eine vollständige Ausfällung nur langsam stattfindet. Der Niederschlag wurde aufs Filter gebracht, mit $2^1/_2\,\%$iger Schwefelsäure ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Quecksilbersulfid abfiltrierte und durch schwaches Erwärmen vom Schwefelwasserstoff befreite Lösung wurde mit Baryt versetzt, in das Filtrat Kohlensäure eingeleitet, schwach erwärmt und vom ausgeschiedenen Bariumkarbonat abfiltriert. Das Filtrat, mit Salzsäure versetzt, gab beim Einengen wieder keine Kristalle von Histidinchlorid.

c) Argininfraktion.

Das von der Histidinfraktion verbliebene, mit Baryt stark alkalisch gemachte Filtrat gab eine Fällung, welche genau so behandelt wurde, wie S. 44 beschrieben, jedoch wieder mit dem gleichen negativen Resultat wie vorher. Die weitere Untersuchung desselben ist unten beschrieben (S. 69).

d) Cholin, Betaine und Lysin.

Das Filtrat vom Argininsilberniederschlag wurde durch Zusatz von Salzsäure vom Silber befreit, mit Schwefelsäure neutralisiert, Bariumsulfat entfernt, eingeengt. Nach Zusatz von Schwefelsäure, bis die Lösung davon $5\,\%$ enthielt, wurden die Basen mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag auf der Nutsche mit $5\,\%$iger Schwefelsäure gut ausgewaschen, bis eine Probe des Filtrates keine Reaktion auf Salpetersäure mehr ergab (Prüfung mit Diphenylamin). Der Niederschlag wurde mit Baryt zersetzt, von den Bariumsalzen abfiltriert, in das Filtrat Kohlensäure eingeleitet, vom Bariumkarbonat abfiltriert. Die so erhaltene goldgelbe, alkalisch reagierende Lösung wurde mit Salzsäure übersättigt und eingeengt, 2 Tage im Exsikkator über Natronkalk stehen gelassen, dann eingedunstet und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Die Trennung der hier erwarteten Basen beruht darauf, daß Cholinchlorid in kaltem, absolutem Alkohol löslich ist, die Chloride der Betaine darin unlöslich, jedoch in kochendem Alkohol löslich sind, während Lysinchlorid selbst in kochendem Alkohol fast ganz unlöslich ist. Da sich der Rückstand in kaltem absoluten Alkohol löste, so lag die Vermutung nahe, daß weder Betaine noch Lysin vorhanden sind.

Zur Ausscheidung des Cholinquecksilberchlorides wurde die absolut alkoholische Lösung mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung versetzt; es entstand eine Fällung, welche sich zu einer

zähen Masse zusammenballte. Der Versuch, das Quecksilberdoppelsalz des Cholins aus Wasser zur Kristallisation zu bringen, führte zu keinem günstigen Resultat, da auch hier, wie in allen vorher erhaltenen Fraktionen, allem Anscheine nach peptonartige Körper enthalten waren, die eine Kristallisation verhinderten. Es muß versucht werden, nach modifizierten Methoden diese Körper von den Basen abzuscheiden.

K. Organische Basen aus Material B.

5,4 kg des nicht weiter gereinigten Materials B wurden gemahlen, mit Petroläther extrahiert, hierauf 2 mal mit Alkohol ausgekocht und in zwei Portionen geteilt. Ungefähr $^1/_3$ des so extrahierten Materials wurde mit 10 %iger Kochsalzlösung extrahiert und die Lösung dialysiert. Sie gab eine schleimige Ausscheidung, welche beim Erwärmen mit etwas verdünnter Salzsäure auf dem Wasserbade koagulierte. Die Ausbeute an so erhaltenen Globulinen war gering.[1])

Der Rest des mit Petroläther und Alkohol extrahierten Materials, entsprechend ca. 3,6 kg Material B wurde mit viel Wasser extrahiert, abgepreßt und ausgewaschen, das Filtrat mit Bleiessig versetzt, solange noch eine Fällung entstand, und von der Bleifällung abgesaugt (Verarbeitung des Filtrats s. S. 68). Die Bleifällung wurde mit Wasser verrieben und unter Rotieren langsam verdünnte Schwefelsäure zufließen gelassen, vom Bleisulfat abfiltriert und aus dem Filtrat der Überschuß der Schwefelsäure quantitativ mit Baryt entfernt. Das Filtrat von Bariumsulfat wurde mit Baryt neutralisiert, auf dem Wasserbad erwärmt, wobei eine Ausscheidung von Bariumsalzen entstand, welche aufs Filter gebracht und gewaschen wurde. Diese Ausscheidung wurde nun mit Schwefelsäure behandelt, bis eine Probe des Filtrats mit Bariumchlorid eine Opaleszenz gab. Das Filtrat, welches saure Reaktion zeigte, wurde auf 100 ccm eingeengt. Es gab folgende Reaktionen:

Millonsches Reagens	schwach positiv
Biuretreaktion	„ „
Hopkinsreaktion mit Glyoxalsäure	negativ
Furfurolreaktion	„
Eßbachreaktion	„
Xanthinprobe	„
Murexidprobe	„

[1]) Schulze fand in Weizenembryonen ebenfalls nur wenig Globuline. Landw. Versuchsstation 44. 130 (1894).

Diazobenzolsulfosäure . . . . . starke Rotfärbung
Mohlisch' Reaktion . . . . . positiv.

Fehlingsche Lösung wird erst nach längerem Kochen der Lösung mit Schwefelsäure reduziert:

4 ccm = ca. 136 g Ausgangsmaterial gab 0,062 g CuO = ca. 0,03% lösliche Kohlenhydrate als Glukose berechnet. Der Bleiessigniederschlag schließt also kaum nennenswerte Mengen von in Wasser löslichen und mit Bleiessig fällbaren Kohlenhydraten ein.

Er bestand wohl im wesentlichen aus den Bleisalzen organischer Säuren.

Da die aus den Bariumsalzen (vgl. oben) gewonnene saure Flüssigkeit nicht zur Kristallisation zu bringen war, so wurde vorläufig die Charakterisierung der Säuren auf spätere Zeit verschoben.

Das oben S. 67 erwähnte Filtrat von der Bleiessigfällung wurde auf ca. 2 l eingeengt, mit Schwefelsäure 5%ig gemacht, vom Bleisulfat abfiltriert und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Fällung wurde nach bekannter Methode mit Baryt zersetzt und die Hexonbasen nach Kossel mit Silbersulfat und Baryt in 3 Fraktionen getrennt.

a) Die Histidinfraktion gab keine wesentlich anderen Resultate als diejenige bei Material A. Das Chlorhydrat gab beim langsamen Verdunsten nur einen dunkelbraunen Sirup. Es wurde versucht, aus dieser wahrscheinlich nicht einheitlichen Fraktion ein Pikrat zu gewinnen, und zu diesem Zwecke der Sirup mit heißem Wasser aufgenommen und mit Natriumpikrat versetzt. Anfangs entstand eine schwarze schmierige Ausscheidung, wovon befreit wurde. Auch bei weiterem Zusetzen von Natriumpikrat in Siedehitze entstand beim Erkalten eine braune ölige Ausscheidung. Das Filtrat von dieser Ausscheidung gab beim langsamen Abkühlen große hellgelbe fiederförmig verzweigte Kristallplatten, welche an den Rändern mit hellbraunem Öl verunreinigt waren und einen Schmelzpunkt von 120° zeigten.

Auch der erwähnte ölige Rückstand wurde im heißen Wasser gelöst und der Versuch gemacht, durch langsames Abkühlen Kristalle zu erhalten. Es entstanden jedoch stets Öltropfen, von denen einige nach längerer Zeit sich in Kristalle umwandelten, die jedoch beim Versuch des Trocknens auf der Tonplatte zerflossen. Der Schmelzpunkt der Kristalle betrug 198°, wobei sich die Substanz schwärzte, bei 205° schäumte sie auf.

Durch systematische Kristallisation wurde noch eine Reihe von Fraktionen der Pikrate mit verschiedenen Schmelzpunkten erhalten. Die bei niederen Temperaturen schmelzenden ver-

wandelten sich auch beim Aufbewahren im Exsikkator über Schwefelsäure in eine schmierige Masse, die höchstschmelzenden zeigten einen Schmelzpunkt von 229° (corr.). Sowohl die niedrigst schmelzenden, als auch die bei 229° schmelzende gaben nach dem Entfernen der Pikrinsäure mit Hilfe von Schwefelsäure und Äther Lösungen, welche mit Diazobenzolsulfosäure intensive Rotfärbung zeigten (Reaktion nach Pauly), es fiel jedoch die von Knoop angegebene Reaktion auf Histidin mit Brom bei allen negativ aus. Es sei noch bemerkt, daß sowohl die von der Pikrinsäure befreiten Lösungen der Kristalle als auch die von letzteren getrennten Mutterlaugen mit Phosphorwolframsäure Niederschläge gaben, aus welchen nach dem Zersetzen mit Baryt farblose Flüssigkeiten erhalten wurden, die die gleichen Reaktionen gaben. Die geringen Mengen der einzelnen Fraktionen genügten nicht für eine Analyse, allem Anscheine nach enthält also die sogen. Histidinfraktion kein Histidin, was auch noch daraus hervorgeht, daß die schwefelsaure Lösung mit Merkurisulfat keine Fällung gab (vgl. S. 65).

b) Ganz besondere Mühe verursachte auch die Aufarbeitung der Argininfraktion. Wie bei Material A gelang es auch hier nicht, Arginin als Nitrat oder als Kupfernitrat zur Kristallisation zu bringen; bei allen diesbezüglichen Versuchen resultierte eine Gallerte, die im Exsikkator über Schwefelsäure allmählich zu einer amorphen, glasigen Masse erstarrte.

Das Kupfernitratdoppelsalz wurde mittels Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat vom entstandenen Kupfersulfid in neutraler Lösung vorsichtig eingedunstet. Die Nitrate der Argininfraktion aus Material A und B gaben folgende Reaktionen:

	Material A	Material B
Biuretreaktion . . .	positiv, blauviolett	positiv, rotviolett
Millons Reagens . .	negativ	Trübung löslich beim Erhitzen
Hopkins Reagens . .	negativ	negativ
Diazobenzolsulfosäure	starke Rotfärbung beim Ansäuern	starke Rotfärbung gelb werdend
Brückes Reagens . .	weiße Trübung	weiße Trübung
Pikrinsäure	gelbe Trübung	gelbe Trübung
Xanthinprobe	negativ	negativ
Murexidprobe . . .	„	„
Mohlisch' Reaktion .	„	„

Die beiden Nitrate der Argininfraktionen zeigten also die gleichen Reaktionen und wurden daher vereinigt.

Aus 5,2 kg des mit Äther und Alkohol extrahierten Mate-

rials A, entsprechend ca. 13 kg der Maisembryonen, waren nur 4,20 g dieser mehrfach gereinigten Fraktion verblieben. Ein Teil davon war zu verschiedenen Versuchen verwendet worden, hauptsächlich aber sind wohl Verluste durch wiederholte Reinigungsversuche entstanden.

Aus ca. 3,6 kg des Materials B verblieben 3,47 g, also ca. 0,1 % als Nitrat (= 0,07 als Arginin berechnet). Die vereinigten Nitrate wurden in 100 ccm Wasser gelöst und weiteren Reinigungs- bezw. Trennungsversuchen unterworfen. Vorerst wurde versucht, schwerlösliche Pikrate zu gewinnen.

I. Fraktion. Die Lösung gab beim Versetzen mit Natriumpikrat eine Ausscheidung von gelben Kristallen, die unter dem Mikroskop als tonnenförmige Sechsecke erschienen. Mitunter waren 4 solcher Kristalle zu einem Kreuz vereinigt. Nach dem Verdunsten der Lösung unter dem Mikroskop resultierten flache Rauten, deren lange Diagonale ca. $^1/_4$—$^1/_5$ von der Länge der Kristallnadeln des Natriumpikrats betrug. Die Winkel der Rauten waren ca. 60° und 120°. Es wurden so 0,68 g des Pikrats gewonnen. Beim Umkristallisieren aus Wasser verblieben 0,34 g Kristalle von hackenförmiger Gestalt. Sie bräunten sich bei ca. 190°, schäumten bei 226° etwas auf und schmolzen bei 250° noch nicht.

0,3332 g des Pikrates wurden mit heißer Salzsäure versetzt, nach dem Erkalten von der Pikrinsäure abfiltriert, die Pikrinsäure gewaschen und die Lösung wiederholt ausgeäthert. Nach dem Verdunsten des Äthers verblieben 0,2598 g = 77,96 % Pikrinsäure, woraus sich ein Molekulargewicht der Base von 64,7 berechnet.

Eine Probe der wäßrigen Lösung gab mit Neßlers Reagens weiße Fällung, ein Beweis, daß keine Ammonsalze vorhanden waren. Die wäßrige Lösung wurde mit Goldchlorid und etwas Salzsäure versetzt der Kristallisation überlassen. Das erhaltene Goldsalz gab bei der Analyse folgende Resultate:

0,3216 g wurden mit Schwefelwasserstoff gefällt und die Fällung des Goldsulfides im Porzellantiegel verbrannt und gab 0,1590 g = 49,41 % Au.

Das Filtrat vom Goldsulfid wurde mit Wasser verdünnt, zur Vertreibung des Schwefelwasserstoffs vorsichtig erwärmt und hierauf mit Silbernitratlösung gefällt. Es gab 0,4556 g AgCl = 35,06 % Cl.

Für Guanidingoldchlorid $CH_5N_3 \cdot HAuCl_4$ berechnet sich 49,40 % Au und 35,53 % Cl. Der niedrigere Gehalt an Chlor läßt sich aus der Bestimmungsmethode erklären; beim Erwärmen der Lösung dürfte trotz der Vorsicht etwas Chlorwasserstoff entwichen sein. Der Schmelzpunkt des Pikrates war nicht genau

zu bestimmen gewesen, jedoch spricht die charakteristische Form der Kristalle desselben sowie die Analyse des Goldsalzes dafür, daß Guanidin vorlag.

II. Fraktion. Die Mutterlauge des ersten Pikrats wurde mit mehr Natriumpikratlösung versetzt und gab nach einiger Zeit 0,97 g gelbe Kristalle, welche im Wasser leichter löslich waren als diejenigen der I. Fraktion. Beim Umkristallisieren aus Wasser verblieben 0,504 g des Pikrats, das sich bei 190° bräunte und bei 250° noch nicht schmolz. Es wurde mit Salzsäure versetzt und von der Pikrinsäure ausgeäthert. 0,4950 g gaben 0,4330 g = 87,52% Pikrinsäure, was einem Molekulargewicht der Base von 32,7 entspräche. Die von der Pikrinsäure befreite Lösung wurde mit Goldchlorid versetzt, das entstandene Goldsalz enthielt 52,08% Au.

0,1022 g Substanz gab 0,0537 g Au = 52,52%
0,0964 g Substanz gab 0,0510 g Au = 51,64%.

Das Goldsalz bräunte sich bei 181°, sinterte bei 194° und schmolz bei 295° (korr.). Die geringe Menge desselben erlaubte keine Analyse.

III. Fraktion. Die Mutterlauge dieses zweiten Pikrats wurde ungefähr auf die Hälfte eingeengt, mit konzentrierter Natriumpikratlösung versetzt und wie die beiden vorhergehenden Fraktionen behandelt. Es resultierten 1,025 g, nach dem Umkristallisieren 0,528 g eines Pikrates, welches einen Schmelzpunkt von 215 (korr.) zeigte, wobei es sich kurz vor dem Schmelzen bräunte. Das daraus gewonnene Goldchloridsalz hatte einen Schmelzpunkt von 282,5° (korr.) und einen Goldgehalt von 54,86%.

0,1637 g Salz gaben 0,0898 g Au. Auch von dieser Fraktion war nicht genügend für eine weitere Analyse vorhanden.

IV. Fraktion. Durch weiteres Einengen der Mutterlauge und Versetzen mit viel Natriumpikratlösung wurden 0,961 g eines grünlichgelben Pikrates erhalten, das nach dem Umkristallisieren aus Wasser 0,788 g gab. Der Schmelzpunkt dieser gereinigten Kristalle lag bei 291° (korr.), wobei Aufschäumen stattfand.

Eine Elementaranalyse ergab folgende Resultate:

0,1000 g gaben bei 18° und 717 mm 21,0 ccm = 23,15% N
0,1130 g gaben 0,1234 g CO_2 und 0,0278 g H_2O
= 29,77% C und 2,73% H.

Hieraus berechnet sich eine Formel

$$C_9H_{10}N_6O_{10} = C_6H_2N_3O_7 \cdot C_3H_8N_3O_3.$$

Um einen Anhaltspunkt über die Verteilung des Stickstoffs in diesem Pikrat zu gewinnen, wurde noch eine Bestimmung des

Amidstickstoffs im Apparat von van Slyke[1]) vorgenommen. Mit dem alten Apparat, welcher mir zur Verfügung stand, können genaue quantitative Bestimmungen nicht ausgeführt werden. Bei einem blinden Versuch mit reinem Natriumnitrit (Kahlbaum), reiner Essigsäure und destilliertem Wasser war auch nach vier Stunden noch kein konstantes Volumen erreicht. Die von der alkalischen Kaliumpermanganatlösung nicht absorbierte Gasmenge betrug 1,2 ccm, bei Zugabe von 10 ccm destilliertem Wasser vermehrte sich dieses Volumen um 0,15 ccm. Bei Substanzen, die ihren Stickstoff nur langsam abgeben, werden durch die öfters wiederholte Überführung der Gase in das Absorptionsgefäß (um auf Konstanz zu prüfen) kleine Mengen der Substanz aus dem Entwicklungsgefäß in das Eudiometerrohr mitgerissen und entgehen somit der weiteren Bestimmung.

Bei einem Vorversuch mit reinem Ammonpikrat erhielt ich aus 0,0876 g (gelöst in 10 ccm Wasser) bei 18,5° und 730 mm

nach 1 Stunde . . .	5,9 ccm	= 3,73 % N
„ $1^1/_2$ „	7,9 „	= 5,05 % N
„ 2 Stunden . . .	8,3 „	= 5,25 % N
„ 3 „ . . .	8,3 „	= 5,25 % N

Die Berechnung für Ammonpikrat ergibt 5,69 % N, die gefundene Zahl war also etwas zu niedrig.

Meine Substanz gab folgende Resultate:

0,1056 g, gelöst in 10 ccm Wasser, gaben bei 20° und 727 mm

nach 1 Stunde . . .	8,7 ccm	= 4,56 % N
„ $1^1/_2$ „ . . .	9,3 „	= 4,79 % N
„ 2 Stunden . . .	9,4 „	= 4,90 % N
„ 3 „ . . .	9,5 „	= 4,95 % N
„ 6 „ . . .	9,6 „	= 5,01 % N.

Nach 6 Min. waren 0,3 ccm = 0,15 %, nach 20 Min. 5,9 ccm = 3,07 % N entwichen.

Bei einem zweiten Versuch erhielt ich nach 4 Stunden 4,93 % N. Bei einem unreinen Präparat war erst nach 8 Stunden Konstanz eingetreten und zeigte nur 4,33 % N.

Nach Van Slyke geben α-Aminosäuren ihren Stickstoff mit salpetriger Säure schon nach 5 Minuten quantitativ ab, Lysin nach ca. $^1/_2$ Stunde, Methylamin und Ammonsalze nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden, Purine und Pyrimidine nach 2—5 Stunden, Harnstoff erst nach 8 Stunden. Guanidin und dessen Derivate geben gar keinen Stickstoff ab. Nach älterer Literatur bildet Guanidin mit salpetriger Säure ein Nitrit.

---

[1]) B. 43. 3170 (1910).

Meine Substanz gab den Amidstickstoff, der etwas mehr als $^1/_5$ und weniger als $^1/_4$ des gesamten Stickstoffes betrug, erst in 5—8 Stunden ab. Es lag also die Vermutung nahe, daß es sich um das Pikrat eines Purin- oder Pyrimidinkörpers handelt. Die gefundene Zahl für den Aminstickstoff steht jedoch mit der auf S. 71 berechneten Formel $C_9H_{10}N_6O_{10}$ nicht im Einklang. Aus dieser müßten 11,58, 7,72 oder 3,86 % als Amidstickstoff gefunden werden, je nachdem 3, 2 oder nur 1 N in dieser Form vorkommt, da ja 3 N für die Pikrinsäure in Rechnung zu setzen sind.

Eine weitere Reinigung und nochmalige Analyse des Pikrates konnte infolge der verbliebenen geringen Menge an Substanz nicht ausgeführt werden, doch nehme ich an, daß sie mit etwas Ammonsalzen verunreinigt war. Ammonpikrat ist verhältnismäßig leicht löslich in Wasser, daher war die erste Pikratfraktion davon frei.

Das von der Goldbestimmung der dritten Fraktion verbliebene Chlorid zeigte folgende Reaktionen:

Neßlers Reagens gibt orangegelbe Trübung.
Diazobenzolsulfosäure orangerote Färbung.
Kaliumpermanganat in saurer Lösung wird nach ca. 3 Min. entfärbt.
Eisenchloridlösung gibt nichts.
Die Substanz sublimiert zum Teil, wobei Kohle verbleibt.

Eine Berechnung für Ammonpikrat gibt für C, H und N etwas niedrigere, für „Amid"-Stickstoff höhere Zahlen als die für Formel $C_9H_{10}N_6O_{10}$ berechneten, während die gefundenen Zahlen dazwischen liegen, wie folgende Tabelle zeigt:

		Berechnet für $C_9H_{10}N_6O_{10}$	Gefunden	Berechnet für Ammonpikrat
	C =	29,81 %	29,77 %	29,26 %
	H =	2,78 %	2,73 %	2,46 %
	N =	23,21 %	23,15 %	22,76 %
Amid-N	für 1 NH_2-Gruppe	3,86 %	5,01 %	5,69 %
	„ 2 „ „	7,72 %		

Die Mutterlauge der Pikrate wurde zwecks weiterer Trennungsversuche von der Pikrinsäure befreit, mit Schwefelsäure 5 %ig gemacht und hierauf mit konzentrierter Phosphorwolframsäure versetzt, wobei ein dicker, weißer kristallinischer Brei ausfiel. Dieser wurde nach 24 Stunden abgesaugt, in der üblichen Weise mit Baryt zerlegt, wobei intensiver Alkylamingeruch auftrat. In das Filtrat von den Bariumsalzen wurde unter Erwärmen längere Zeit Luft eingeleitet, hierauf das Barium mit Kohlen-

säure gefällt und von diesem abfiltriert. Eine Probe des Filtrates gab mit Neßlers Reagens keine Fällung. Die Lösung wurde nun mit Salzsäure schwach sauer gegemacht, mit Bariumkarbonat neutralisiert und eingeengt. Sie gab folgende Reaktionen:

Brückes Reagens: negativ.
Neßlers Reagens: schwache weiße Trübung.
Cadmium-Kaliumjodid: Trübung.
Platinchlorwasserstoffsäure: nichts.
Goldchlorid: schwache gelbe Trübung.
Kaliumferricyanid: nichts.
Biuretreaktion: positiv.
Millons Reagens: gelbliche Fällung löslich im Überschuß des Reagenz.
Diazobenzolsulfosäure: starke rote Färbung.

Diese Rotfärbung[1]) führte zur Vermutung, daß Histidin vorhanden sei, daher wurde nach Knoop[2]) mit Bromwasser geprüft.

Bromwasser wird in der Kälte entfärbt, ein Überschuß davon wird in der Hitze entfärbt und gibt bei weiterem Erhitzen keine Ausscheidung von Flocken und keine Purpurfärbung. Die Knoopsche Reaktion auf Histidin war demnach negativ.

Eisenchloridlösung wird intensiv rot, durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd entfärbt: Reaktion von Kikkoji und Neuberg[3]) auf Histidin also auch negativ.

Bromwasser bis zur Entfärbung zugefügt, erwärmt, nach dem Erkalten Barytwasser im Überschuß: gab keine Purpurfärbung. Reaktion auf Cytosin[4]) negativ.

Kaliumpermanganat in schwefelsaurer Lösung wird momentan entfärbt.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse darf behauptet werden, daß sich in der „Argininfraktion", welcher kein Histidin beigemengt war, eine reduzierende Substanz vorfindet. Diese Fraktion enthielt aber auch kein Arginin, da vergeblich versucht worden war, das charakteristische, gutkristallisierende Nitrat bezw. das Kupfernitratdoppelsalz darzustellen; dafür spricht auch die Tatsache, daß Neßlers Reagens keine Fällung gab. Cytosin scheint nicht darin enthalten zu sein, es läßt sich jedoch nicht behaupten, ob eine einheitliche Verbindung vorlag. Zur weiteren Charak-

[1]) Pauly, Z. f. physiol. Chem. 42. 508 (1901).
[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11. 356 (1908).
[3]) Biochem. Z. 20. 523 (1909).
[4]) Wheeler and Johnson, Journ. of. Biol. Chem. 3. 183 (1907).

terisierung der ungesättigten Verbindung wurden folgende Versuche vorgenommen:

Die Lösung wurde mittelst Silbersulfat von überschüssigem Barium und von Chloriden befreit, das Filtrat eingeengt und über Natronkalk evakuiert, wobei ein gelber, klarer Syrup verblieb. Eine Probe desselben gab beim Erhitzen mit Fehlingscher Lösung Spuren von Kupfer, die Flüssigkeit färbte sich rotviolett, und es trat intensiver Geruch nach Trimethylamin auf. Mit Phenylhydrazin gab eine weitere Probe einen hellgelben Kristallbrei, der bei ca. 20° erweichte. Ammoniakalische Silbernitratlösung gab eine weiße Fällung (wohl von noch vorhandenen Chloriden), welche sich sofort schwärzte. Phloroglucin mit Salzsäure gab beim Erwärmen keine Rotfärbung, wodurch die Anwesenheit eines Pentosids ausgeschlossen ist. Ein Teil des Syrups wurde mit Goldchlorid und Salzsäure versetzt, es entstand eine ölige Ausscheidung, welche sich beim Erwärmen löste, beim langsamen Abkühlen nur Spuren von Kristallen gab.

Der Rest des Syrups wurde eingedunstet und der Kristallisation überlassen. Im Exsikkator über Schwefelsäure verblieb nach längerer Zeit eine amorphe, glasige Masse. Diese wurde mit Wasser aufgenommen und die freie Base darzustellen versucht. Die Lösung wurde vorsichtig mit frisch gefälltem Silberoxyd versetzt, bis eine Probe des Filtrates mit Silbernitrat nur noch schwache Trübung gab. Es ließ sich jedoch ein Überschuß von Silberoxyd nicht vermeiden, nach längerem Stehen gab eine Probe mit wenig Salzsäure eine geringe Fällung. Daher wurde von den ausgefallenen Silbersalzen abfiltriert in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet und das Filtrat vom Silbersulfid bei 60—80 mm Druck (bei niedrigerem Druck fand Aufschäumen statt) und 50° vorsichtig eingeengt. Im Vakuum über Natronkalk getrocknet verblieb wieder ein hellgelber Syrup.

Eine Probe desselben, im Wasser gelöst, gab mit viel Alkohol eine Emulsion, welche sich beim Erwärmen klar löste. Die Lösung hinterließ beim Abkühlen ölige Tropfen. Beim Eindunsten dieser Lösung mit etwas Eisessig verblieb nach längerem Stehen im Exsikkator wiederum eine amorphe Masse. Eine zweite Probe gab bei Neutralisation mit Oxalsäure eine Trübung, wobei die Flüssigkeit aufschäumte. Das Filtrat von dieser Trübung konnte auch nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Mit Pikrolonsäure entstanden wenig gelbe Kristalle, welche in feinen Nadeln strahlig angeordnet waren.

Die Base wurde nun mit Schwefelsäure neutralisiert und der Kristallisation überlassen. Es verblieb jedoch wiederum wie bei allen anderen Versuchen zur Darstellung eines Salzes ein

Syrup, der im Exsikkator glasig erstarrte und nach dem Zerkleinern eine gelbliche, stark hygroskopische Substanz darstellte.

Eine Schmelzpunktbestimmung der Substanz ergab folgendes:

bei 106° starkes Aufschäumen
„ 210° Sintern
„ 230—240° Bräunen
„ 281° (korr.) Schmelzen.

Eine Probe gab im Glührohr starkes Aufschäumen unter Abgabe von Wasser und Geruch nach verbrannten Haaren und Ammoniak (Nikotin?). Diese Probe gab eine deutliche Pyrrolreaktion.

Eine Prüfung des oben S. 75 erwähnten Acetats auf Schwefel war negativ.

Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz enthielt 17,73 % N und nur 2,94 % H_2SO_4:

0,0917 g nach Kjeldahl verbrannt gaben 0,01623 g N
0,0927 g Substanz gaben 0,0065 g $BaSO_4$.

Eine Bestimmung des Amidstickstoffs mit dem Apparat von Van Slyke ergab 5,86 % N. 0,0927 g gaben:

Nach	6 Min.	3,0 ccm	= 2,04 % N
„	30 „	5,9 „	= 3,81 % „
„	1 Std.	6,4 „	= 4,13 % „
„	2¼ „	7,3 „	= 4,72 % „
„	3 „	8,6 „	= 5,58 % „
„	6 „	9,1 „	= 5,82 % „
„	7 „	9,15 „	= 5,86 % „

Es ist also in der Substanz ein Drittel des gesamten Stickstoffs in Form von Amidstickstoff gebunden.

Eine Mikroanalyse nach Professor Pregl ergab folgende Resultate:

Stickstoffbestimmung:

6,268 mg gaben bei 712 mm und 20° 1,005 ccm = 17,50 % N
3,370 „ „ „ 716 „ „ 20° 0,550 „ = 17,91 % „
Mittel: 17,70 % N.

Bestimmung von Kohlen- und Wasserstoff im Rohr mit Bleichromat:

4,572 mg gaben 3,215 mg H_2O und 7,20 mg CO_2
= 7,87 % H und 42,95 % C.

Die obigen Bestimmungen sowie auch die folgenden des Wassers wurden mit der über Schwefelsäure getrockneten Substanz ausgeführt.

Wasserbestimmung:

12,790 mg der Substanz verloren beim langsamen Erhitzen:

in 25	Min.	bis	104°	0,840 mg	=	6,36 % H_2O
„ 35	„	„	120°	0,858 „	=	6,71 % „
„ 50	„	„	125°	0,870 „	=	6,80 % „
„ 80	„	„	135°	0,963 „	=	7,53 % „
„ 95	„	„	142°	1,032 „	=	8,07 % „
„ 115	„	„	160°	1,285 „	=	10,04 % „

Bei ca. 145° fand ein Aufblähen der Substanz statt.

Für die freie Base berechnet sich aus der obigen Analyse (nach Abzug der in der Substanz enthaltenen 2,94 % H_2SO_4) folgende Formel: $C_{17}H_{37}N_6O_{8,5}$ oder $C_{17}H_{32}N_6O_6 + 2{,}5\,H_2O$. Molekulargewicht 461,4, davon ca. 10 % = 2,5 Mol. Wasser.

Berechnet für $C_{17}H_{37}N_6O_{8,5}$	Gefunden
C = 44,22 %	44,25 %
H = 8,08 %	8,05 %
N = 18,22 %	18,23 %

Wenn man nur 3 Atome Stickstoff in der Substanz annimmt, so gibt dies für Kohlenstoff 8,5 Atome; die Formel mit 8 Atomen gibt für C viel zu kleine, diejenige mit 9 Atomen zu große Werte.

Über die Natur dieses Körpers kann leider nichts Positives gesagt werden, ich möchte sogar noch in Frage stellen, ob er ganz rein war. Es steht nur fest, daß von je 3 Stickstoffatomen eines in Form von Amidstickstoff darin vorkommt. Bei der wahrscheinlicheren und aus der Formel sich ergebenden Annahme von 6 Stickstoffatomen sind auch 2 Aminogruppen anzunehmen, von denen nur eine in α-Stellung zur Carboxylgruppe stehen könnte, da die Reaktion mit salpetriger Säure erst nach 7 Stunden quantitativ verlaufen war. Hierbei ist noch unentschieden, ob überhaupt eine Carboxylgruppe in der Substanz vorkommt; jedenfalls handelt es sich um keine der bekannten Aminosäuren.

Trotzdem es nicht gelungen war, aus der zuletzt beschriebenen Substanz ein kristallisierendes Derivat zu erhalten, so ist doch kaum anzunehmen, daß bei den Prozeduren der wiederholten Reinigungen noch ein kompliziertes Gemisch verschiedener Substanzen darin enthalten sei, zudem ja auch aus der Argininfraktion einige Pikrate, darunter das Guanidinpikrat, abgeschieden werden konnten.

Auf Grund der Beobachtungen scheint mir die Annahme berechtigt, daß es sich um ein Purinderivat mit 2 Aminogruppen handeln kann. In der Argininfraktion sind ja schon wiederholt Purinkörper aufgefunden worden, da die Trennung mit Silbersalzen keine ganz quantitative ist.

3. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Aus den im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnissen lassen sich folgende Sätze aufstellen:

Die Zusammensetzung der Maiskeime weicht in vieler Beziehung von derjenigen der in unserm Laboratorium eingehend untersuchten Weizenkeime verschiedener Provenienz ab. Diese Abweichung ist aber keine zufällige; sie besteht in erster Linie darin, daß in den Weizenkeimen verschiedene kristallisierbare Stickstoffverbindungen (Eiweißabbauprodukte) in nicht unbeträchtlicher Menge enthalten sind. In den zwei verschiedenen von mir untersuchten Sorten von Maiskeimen konnte kein Arginin und nur höchstens Spuren von Glutamin nachgewiesen werden. Überraschend war das Vorhandensein von Guanidin, eine Verbindung, die in Weizenembryonen nicht aufgefunden wurde. Daneben wurde in der gleichen Fraktion eine Base unbekannter Konstitution aufgefunden. Bekanntlich enthalten die Malzkeime eine Base das Hordenin = Paraoxyphenyläthyldimethylamin (s. S. 11). Die von mir aufgefundene Base ist kein Hordenin. Man darf wohl annehmen, daß die den Maiskeimen zugeführten Bausteine des Eiweißmoleküls nahezu vollständig zum Aufbau des Eiweiß verbraucht werden, in den Weizenkeimen dagegen eine partielle Anhäufung dieser Produkte erfolgt. Ob das Guanidin als Zwischenstufe für die Eiweißsynthese in Betracht kommt, erscheint fraglich. Es ist ferner beachtenswert, daß bei der Autolyse der Maiskeime in vitro nur eine geringfügige Aufspaltung von Eiweiß erfolgt. Daß in der Tat die Quantität nicht-eiweißartiger Stickstoffverbindungen sehr gering ist, wird durch das Ergebnis der quantitativen Untersuchungen noch gestützt.

Der Stickstoffgehalt ist wesentlich niedriger als bei Weizenembryonen; dementsprechend wurde auch der Eiweißgehalt niedriger gefunden. Bei der Hydrolyse des Eiweiß wurden die bekannten Bausteine erhalten, daneben eine Asparaginsäure von etwas abweichenden Eigenschaften.

Auch die Maiskeime enthalten eine größere Menge wasserlöslicher Eiweißkörper sowie eine kleine Menge Globuline; eine Nukleinsäure konnte nicht isoliert werden, aus Weizenembryonen gelingt die Darstellung leicht.

Der Fettgehalt ist ungefähr viermal so groß als derjenige der Weizenkeime. Das Fett enthält Glyceride fester und flüssiger Fettsäuren, daneben Sitosterin und Phosphatide.

Vermutlich kommt in den Maiskeimen ein Glykosid vor; es konnte Pentose nachgewiesen werden, welche bei der Autolyse wohl aus einem Pentosid abgespalten worden ist.

Die Maiskeime besitzen einen ansehnlichen Gehalt an Inositphosphorsäure.

Entgegen einer weit verbreiteten Ansicht bin ich der Überzeugung, daß verwandte Pflanzen nicht auch ähnliche oder gar gleiche chemische Bestandteile besitzen müssen. Das sogenannte Milieu beeinflußt bei einer Spezies wohl hauptsächlich die quantitative Seite der organischen Substanzen der einzelnen Pflanzenbestandteile und auch die qualitative Zusammensetzung der (anorganischen) Asche derselben.

Bei verschiedenen Spezies innerhalb der gleichen Familie variiert sowohl die qualitative als auch die quantitative Zusammensetzung; andererseits treten wenig verbreitete organische Verbindungen in den verschiedensten Klassen des Pflanzenreiches sozusagen sprungweise auf, während sie bei naheverwandten Spezies fehlen. Es dürfte also vergebens sein, auf Grund der chemischen Untersuchungen eine ungezwungene Klassifikation der Pflanzen zu versuchen.

Nachtrag.

Nach Abschluß meiner Arbeit erschien eine Abhandlung von C. Funk[1]) über „Vitamine“, zu denen auch das Oryzanin (s. S. 15) gehört; es sind dies komplizierte sticksoffhaltige Verbindungen, deren Stickstoff nicht aminartig gebunden ist und der nicht mit Säuren reagiert. Sie sind im Pflanzenreiche weit verbreitet und treten besonders dort reichlich auf, wo starkes Wachstum angeregt wird. Hefe z. B. ist die vitaminreichste Substanz. Der Mangel an Vitaminen in sonst vollwertiger Nahrung führt zu verschiedenen Krankheiten wie Skorbut, Beri-Beri, Pellagra, das vollkommene Fehlen derselben zum Tode (vgl. S. 2 u. 15).

Saftige Vegetabilien z. B. Obst, frisches Gemüse, Kartoffeln sind reich an Skorbutvitaminen; sie verlieren ihre Vitamine beim Trocknen und starkem Erhitzen. Getreidekorn enthält nur Beri-Beri-Vitamine und zwar meist in der Oberfläche des Kornes, unter der Haut und in der Aleuronschicht; daher verlieren Reis und Mais beim Schleifen die Vitamine und es tritt bei einseitiger Ernährung mit entschältem Mais die Pellagra auf.

Die Vitamine sind pharmakologisch indifferent und können in jeder beliebigen Menge verabreicht werden; sie kommen auch in roher Milch, Eigelb, Fleisch (Herzmuskel) und Gehirn vor.

[1]) Münchner Medizin. Wochenschrift 1913 S. 2615, 1914 S. 698; vgl. auch P. Hüssig, ebenda 1914 S. 981.

Robert Noske, Borna-Leipzig, Großbetrieb für Dissertationsdruck.

Lebenslauf.

Ich wurde am 15. Mai 1872 in Lodz (Russisch-Polen) geboren, besuchte dort zuerst eine Privatschule und hierauf bis Juni 1888 die sechsklassige höhere Gewerbeschule. Im August 1891 absolvierte ich die Abteilung für Maschinentechniker am kantonalen Technikum in Winterthur, bestand dann vor der Prüfungskommission in Bautzen das Examen zum einjährig-freiwilligen Dienst, dem ich im Jahre 1893/94 in Breslau Genüge leistete.

Die Zwischenzeiten sowie die Zeit von 1894 bis 1897 füllte ich mit praktischer Betätigung in den Maschinenfabriken von Gebrüder Sulzer in Winterthur und der Société Alsacienne des Constructions Méchaniques in Mülhausen im Elsaß sowie in großen Baumwollspinnereien Rußlands und Österreichs aus. Von Mai 1897 bis August 1905 wurde mir die selbständige technische Leitung von bedeutenden Baumwollspinnereien und Webereien in Russisch-Polen anvertraut.

Im Oktober 1905 trat ich als regulärer Studierender in die Naturwissenschaftliche Abteilung der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich ein, woselbst ich im Juli 1910 das Diplom als Fachlehrer in naturwissenschaftlicher Richtung erwarb. Aus Gesundheitsrücksichten mußte ich hierauf die Fortsetzung der Studien zwei Semester unterbrechen.

Von Oktober 1911 bis September 1913 war ich als Vorlesungsassistent der Agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule angestellt, wobei die vorliegende Arbeit beendet wurde.

Hierauf studierte ich noch ein Semester an der Universität Neuchâtel und bestand im Juli 1914 die mündliche Doktorprüfung.

Es sei mir gestattet auch an dieser Stelle

Herrn Prof. Dr. E. Winterstein

für das rege Interesse an meiner Arbeit und die stets liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.